

Validität immunchemischer Screeningtests bei der Überwachung Drogenabhängiger.

**Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

**vorgelegt von Alexander Pain
aus Moskau**

Gießen 2005

Aus dem Medizinischen Zentrum für Ökologie

Institut für Rechtsmedizin

Direktor: Prof. Dr. med. G. Weiler

des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Giessen

Betreuer: Prof. Dr. rer. nat. Harald Schütz

Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Harald Schütz

Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Dr. biol. hum. Klaus Rödersperger

Tag der Disputation: 24.10.2006

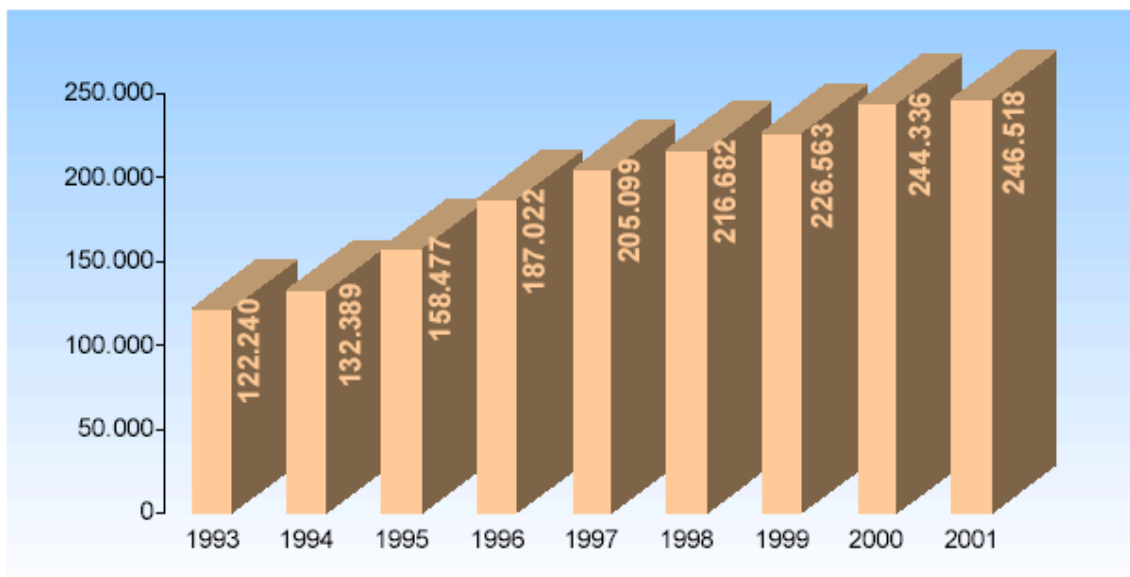
Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|----------|
| A. Theoretischer Teil..... | 5 |
| 1. Einleitung und Problemstellung..... | 5 |
| 2. Basisinformationen zur Pharmakodynamik und –kinetik der untersuchten Fremdstoffe..... | 10 |
| 2.1 Pharmakodynamik und –kinetik der Amphetamine..... | 10 |
| 2.2 Pharmakodynamik und –kinetik der Cannabinoide..... | 14 |
| 2.3 Pharmakodynamik und –kinetik des Kokain..... | 17 |
| 2.4 Pharmakodynamik und –kinetik der Opiate..... | 22 |
| 3. Das Untersuchungsmaterial..... | 25 |
| 3.1 Harn..... | 25 |
| 3.2 Blut / Serum..... | 26 |
| 3.3 Mageninhalt und Magenspülflüssigkeit..... | 27 |
| 3.4 Alternative Untersuchungsmaterialien..... | 27 |
| 3.4.1 Speichel..... | 27 |
| 3.4.2 Schweiß..... | 28 |
| 3.4.3 Haare..... | 28 |
| 4. Benutzte Analysenverfahren..... | 30 |
| 4.1 Immunchemische Screeningverfahren (Immunoassays)..... | 30 |
| 4.2 Gaschromatographie..... | 36 |
| 4.3 Massenspektrometrie..... | 39 |
| 5. Probenvorbereitung (Präanalytik)..... | 44 |

| | |
|--|------------|
| B. Experimenteller Teil..... | 45 |
| 6. Material und Methoden..... | 45 |
| 6.1 Herkunft des Untersuchungsmaterial..... | 45 |
| 6.2 Screening mit immunchemischen Testverfahren (Immunoassays)..... | 45 |
| 6.2.1 Chemikalien und Geräte..... | 45 |
| 6.3 Bestätigungsanalytik mit der Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS)..... | 49 |
| 6.3.1 Chemikalien und Geräte..... | 49 |
| 7. Ergebnisse und Diskussion..... | 53 |
| 7.1 Immunchemisches Screening (Immunoassays)..... | 54 |
| 7.1.1 Vor- und Nachteile der Kreatininkorrektur..... | 54 |
| 7.1.1.1 Vorteile der Kreatininkorrektur..... | 56 |
| 7.1.1.2 Nachteile der Kreatininkorrektur..... | 58 |
| 7.1.2 Sensitivitätsprobleme..... | 61 |
| 7.1.2.1 „Falsch-negative“ immunchemische Resultate..... | 61 |
| 7.1.2.2 Positive immunchemische Resultate ohne notwendige Bestätigungsanalyse..... | 63 |
| 7.1.2.3 „Falsch-positive“ immunchemische Resultate..... | 64 |
| 7.1.3 Weitere Probleme..... | 73 |
| 7.2 Aktuelle Bestätigungsanalytik und Differenzierung mit der Gaschromatographie / Massenspektrometrie nach dem Konsum von Mohnprodukten..... | 74 |
| 8. Zusammenfassung und Ausblick..... | 77 |
| 9. Anhang..... | 80 |
| 10.Literatur..... | 104 |
| 11. Lebenslauf..... | 112 |
| 12. Danksagung und Erklärung..... | 113 |
| 13. Zusammenfassung / Summary..... | 114 |

1. Einleitung

Der jährlich veröffentlichte Rauschgiftjahresbericht (Polizeiliche Kriminalstatistik) für die Bundesrepublik Deutschland des Bundeskriminalamtes weist eine stetige Zunahme sowohl bei den allgemeinen Rauschgiftdelikten (Beschaffung und Handel), als auch bei den Konsumdelikten auf.



Quelle: Polizeiliche Kriminalstatistik

Abbildung 1:
Entwicklung der Rauschgiftdelikte in der Bundesrepublik Deutschland (1993 – 2001)
(Quelle: Polizeiliche Kriminalstatistik)

Zur Erkennung und zum Nachweis von Drogen und anderen Fremdstoffen in Körperflüssigkeiten wurden früher hauptsächlich chromatographische und spektroskopische Methoden eingesetzt. Inzwischen vollzog sich jedoch vor allem auf dem Gebiet der Suchanalyse (Screening) ein geradezu revolutionärer Wandel, denn immunchemische Methoden (z.B. AMIA, ADx, AxSym, CEDIA, Drug-Screen, ELISA, EMIT, FRONTLINE, GLORIA, Imx, LIA, MTP, RIA, TDxFlx, TRIAGE) belegen weltweit nunmehr den ersten Platz unter den toxikologischen Screeningverfahren und erst mit großem Abstand folgen andere. Verantwortlich für diese stürmische Entwicklung ist vor allem der enorme Anstieg der Fallzahlen, bedingt durch die zunehmende therapeutische, aber leider auch missbräuchliche Verwendung vieler Medikamente und Suchtstoffe. Es wurden daher Screening- und Nachweisverfahren erforderlich, die gut praktikabel sind und zu einem raschen, allerdings auch nur vorläufigen(!) Resultat führen.

Betroffen ist insbesondere die Notfallanalytik, wo häufig während der Nachtstunden ohne Zugang zu komplizierteren Analysengeräten (z.B. GC/MS oder LC-MS) eine rasche Orientierung hinsichtlich der Einnahme toxikologisch besonders relevanter Wirkstoffgruppen erforderlich ist. Eine weitere Attraktivität der immunochemischen Verfahren ist auch darin begründet, dass kleinere Untersuchungsstellen (z.B. viele Krankenhäuser, Drogenambulanzen, betriebsärztliche Laboratorien im Rahmen des Workplace Testing u.a.) mit vergleichsweise geringem Aufwand in die Lage versetzt werden, ein Screening auf die wichtigsten Fremdstoffe durchzuführen. Hierbei besteht jedoch die permanente Gefahr falsch-positiver und falsch-negativer Resultate sowie anderer Risiken (engl. „pitfalls“), die auch die Probenasservierung sowie die klinisch-toxikologische Interpretation der Ergebnisse umfassen.

Grundsätzlich lassen sich die Risiken eines immunochemischen Screenings folgenden Kategorien zuordnen:

Fehlerhafter Ausschluss von Giften aufgrund negativer Immunoassays

Mit immunochemischen Tests werden im Bereich der klinischen Toxikologie meist nur folgende Substanzklassen untersucht:

- Amphetamine
- Barbiturate
- Benzodiazepine
- Cannabinoide
- Carbamazepin
- Kokain
- LSD
- Methadon
- Opiate
- Paracetamol
- Salicylate
- Trizyklische Antidepressiva

Häufig beschränken sich klinisch-chemische Laboratorien sogar auf eine noch geringere Anzahl von Parametern.

Damit wird aber nur ein geringer Bruchteil der beispielsweise in der ROTEN LISTE 2005 enthaltenen toxikologisch relevanten Wirkstoffe abgedeckt. Von Immunoassays nicht erfasst werden beispielsweise:

- Hypnotika (Zolpidem, Zopiclon und zahlreiche andere Hypnotika mit starker Verbreitung),
- Psychopharmaka (Citalopram, Fluoxetin, Haloperidol, Melperon, Paroxetin, Sertralin, Sulpirid u.a.),

- Metallgifte (Arsen, Blei, Lithium, Quecksilber, Thallium u.a.),
- Pestizide (Metasystox, Parathion, Pyrethrine u.a.),
- flüchtige Giftstoffe (Chloroform, Ether, Kohlenmonoxid, Kohlendioxid u.a.),

und zahlreiche andere klinisch-toxikologisch hochrelevante Substanzen.

Es muss weiterhin darauf hingewiesen werden, dass viele opiatähnlich wirksame Substanzen, wie z.B.

- Dextropropoxyphen
- Levomethadon
- Nefopam
- Pentazocin
- Pethidin
- Tilidin und
- Tramadol

selbst von Opiat-Immunoassays **nicht** erfasst werden, da sie strukturell mit den eigentlichen Opiaten (z.B. Morphin, Codein, Dihydrocodein, Heroin) nicht verwandt sind (Schütz et al. 2000).

Falsch-negative Immunoassays

„Falsch-negativ“ bedeutet, dass ein Test trotz des Vorhandenseins toxikologisch relevanter Substanzen ein negatives Ergebnis anzeigt. Häufig wird nach einem negativen immunchemischen Befund keine weitere Untersuchung mehr durchgeführt, da moderne Immunoassays kaum noch „falsch-negative“ Ergebnisse liefern. In diese Screeningstrategie ist die im Rahmen der Drogenüberwachung auch meist zutreffende Überlegung eingebunden, dass ein „falsch-negativer“ Test keinen großen forensischen „Folgeschaden“ verursacht, da durch ihn (im Gegensatz zu „falsch-positiven“ Tests) kaum jemand verdächtigt oder belastet wird. Allerdings kann ein „falsch-negativer“ Test das Risiko in sich tragen, dass beispielsweise ein Busfahrer von der Personenbeförderung nicht rechtzeitig ausgeschlossen und eine Drogentherapie erst nach weiteren, möglicherweise fatalen, Vorfällen eingeleitet wird. Von erheblich größerer Bedeutung sind „falsch-negative“ Ergebnisse jedoch bei Patienten sowohl im stationären wie ambulanten Bereich mit fehlerhaften Rückschlüssen für Diagnose, Therapie und auch Prognose. Die Gefahr „falsch-negativer“ Immunoassays besteht besonders bei den nach wie vor stark verbreiteten Benzodiazepinen. Beispiele: Einige weit verbreitete Immunoassays auf Benzodiazepine verlaufen nach der Einnahme so wichtiger Psychopharmaka wie Bromazepam, Flunitrazepam, Lorazepam, Lormetazepam, Oxazepam, Temazepam und Triazolam häufig absolut negativ. Unterzieht man

das Untersuchungsmaterial präanalytisch jedoch einer enzymatischen Konjugatspaltung, so resultieren stark positive Befunde (Schütz 1986).

Falsch-positive Immunoassays

Bei allen Immunoassays besteht grundsätzlich die Gefahr von „falsch-positiven“ Ergebnissen, d.h. die Tests können positiv verlaufen, obwohl der angezeigte Wirkstoff im Untersuchungsmaterial überhaupt nicht vorhanden ist. Viele Tests liefern darüber hinaus sogar einen Zahlenwert für die Konzentration dieser nicht existierenden Substanz. Dies kann zu folgenschweren Fehlschlüssen führen, wenn beispielsweise wegen eines fälschlicherweise angenommenen Rückfalls eine Therapie widerrufen, ein Strafverfahren eingeleitet oder im klinischen Bereich eine invasive risikoreiche Therapie (z.B. Hämo-perfusion oder Antidotgabe) durchgeführt wird (Gibitz et al. 1995). Beispiele: Ein verbreiteter Immunoassay für LSD liefert nach der Einnahme des Hustenmittels Ambroxol oder des Antidepressivums Sertralin regelmäßig ein „falsch-positives“ Ergebnis. Positive Resultate beim Immunoassay für Amphetaminderivate werden auch nach der Einnahme von Süßstoffen (Cyclamat) oder bereits bei geringen Fäulniserscheinungen, wie sie beispielsweise beim längerfristigen Versand von ungekühlten Proben auftreten können, beobachtet. Über falsch-positive Ergebnisse bei Opiat-Tests mit schwerwiegenden Konsequenzen für das Vertrauensverhältnis Arzt/Patient wird vor allem nach der Einnahme der Psychopharmaka Amitriptylin und Promethazin berichtet, die häufig Bestandteil einer flankierenden Therapie von Drogenabhängigen sind. Schließlich fallen zahlreiche Immunoassays für trizyklische Antidepressiva nach der Verabreichung des Antihistaminikums Diphenhydramin sowie Psychopharmaka aus der Klasse der Phenothiazine falsch-positiv aus.

Falsch interpretierte Immunoassays

Schließlich bieten Immunoassays keine verlässliche Möglichkeit der Differenzierung zwischen einzelnen Wirkstoffen einer Substanzklasse. Verläuft ein Immunoassay auf Opiate beispielsweise positiv, so spricht er, falls es sich nicht um ein falsch-positives Ergebnis handelt, lediglich für das Vorliegen von Opiaten, gestattet jedoch keinerlei Aussagen dahingehend, ob beispielsweise das verschreibungsfähige Codein und Dihydrodrocodein oder das nicht verkehrsfähige und daher illegale Heroin eingenommen wurde, was beträchtliche Bedeutung für die strafrechtlichen und therapeutischen Konsequenzen haben kann.

Die fehlende Möglichkeit der Differenzierung bedeutet insbesondere auch bei den Immunoassays auf Amphetaminderivate, Barbiturate, Benzodiazepine und trizyklische

Antidepressiva einen gravierenden Nachteil.

Die Beispiele belegen, dass eine so genannte Bestätigungsanalyse zumindest im forensischen Bereich unverzichtbar ist. Darunter versteht man die Überprüfung der immunchemischen Befunde mit Hilfe von Verfahren, denen ein anderes physikalisch-chemisches Analysenprinzip zugrunde liegt. Dies bedeutet aber zwangsläufig auch, dass ein weiterer Immunoassay grundsätzlich zur Bestätigung nicht geeignet ist! Zur Bestätigung wird hauptsächlich die Gaschromatographie / Massenspektrometrie (GC/MS) herangezogen, neuerdings auch die Hochdruckflüssigkeitschromatographie in Kombination mit der Massenspektrometrie (LC/MS), d.h. Verfahren einer höheren analytischen Hierarchie.

Problemstellung

Die oben dargestellten Fehlermöglichkeiten zeigen deutlich, dass bei der Bewertung eines toxikologischen Analysenergebnisses stets die Validität der Methodik kritisch überprüft werden muss. Wurden nur immunchemische Verfahren (Immunoassays) eingesetzt, so besteht, wie bereits dargelegt, die permanente Gefahr „falsch-positiver“ und „falsch-negativer“ Ergebnisse. Außerdem ist die mit Immunoassays erfassbare Stoffauswahl nur auf wenige Substanzgruppen begrenzt und hinter einem scheinbar negativen immunchemischen Screeningbefund kann sich eine massive Vergiftung mit einer Vielzahl anderer Stoffe verbergen. Eine zweifelsfreie und somit beweis-sichere Analyse, die im forensischen Bereich inzwischen unverzichtbar ist und von den Verfahrensbeteiligten zu Recht auch konsequent gefordert wird, gelingt daher nur im Rahmen der Bestätigungsanalyse, vorzugsweise der Gaschromatographie in der Kombination mit der Massenspektrometrie (GC/MS), neuerdings auch der Hochdruckflüssigkeitschromatographie / Massenspektrometrie (LC/MS). Leider steht die zunehmend schwierigere wirtschaftliche Entwicklung dieser notwendigen optimalen Lösung im Weg, was häufig unbefriedigende Kompromisse zwischen Nachweissicherheit und Kosten zur Folge hat.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte am Beispiel der Drogenerkennung und –überwachung in einer größeren psychiatrischen Klinik überprüft werden, in welchem Umfang sich ein Screening auf Drogen, Medikamente und andere relevante Fremdstoffe auf einen alleinigen immunchemischen Nachweis stützen kann und wann die beweis-sichere Bestätigungsanalyse mit Hilfe massenspektrometrischer Verfahren auch im Zusammenhang mit den dort vorherrschenden Fragestellungen, die einen meist eher klinischen als forensischen Bezug haben, unverzichtbar ist.

Im Vordergrund der Untersuchungen standen dabei Amphetaminderivate, Cannabinoide, Kokain und Opiate, daneben aber auch häufig benutzte „Ausweichdrogen“, wie beispielsweise

Benzodiazepine. Als Störmöglichkeiten der Tests unbedingt in Betracht zu ziehen waren aber auch Wirkstoffe, die therapeutisch verabreicht wurden (z.B. Antidepressiva, Neuroleptika u.a.).

Nachstehend sollen zunächst einige Basisinformationen zu den untersuchten Fremdstoffen zusammengestellt werden.

2. Basisinformationen zur Pharmakodynamik und –kinetik der untersuchten Fremdstoffen.

2.1 Pharmakodynamik und –kinetik der Amphetamine

Allgemeines

Bei Amphetamin (α -Methylphenethylamin) und seinen Derivaten handelt es sich um eine Gruppe synthetisch hergestellter Substanzen, deren so genannte Muttersubstanz das Phenylethylamin ist. Die illegale Herstellung aus verschiedenen Grundstoffen erfolgt meist in privaten Labors, in denen möglichst leicht zugängliche chemische Substanzen nach Syntheseverfahren, häufig aus dem Internet, zur Reaktion gebracht werden. Als Ecstasy galt ursprünglich nur das chemisch als 3,4-Methylenedioxy-N-methylamphetamin(MDMA) bezeichnete Amphetaminderivat. Die zu dieser Gruppe gehörenden und sich in ihrer Struktur nur geringfügig unterscheidenden Substanzen MDA (3,4-Methylenedioxyamphetamin) und MDE (3,4-Methylenedioxy-N-ethylamphetamin) werden ebenfalls häufig mit Ecstasy bezeichnet. Inzwischen werden auf dem illegalen Markt die unterschiedlichsten Substanzen unter der Bezeichnung Ecstasy angeboten, wobei die Tabletten oder Kapseln häufig auch noch zusätzliche Wirkstoffe wie Amphetamin und Koffein oder andere toxische Substanzen enthalten. In diesem Zusammenhang ist darauf hinzuweisen, dass zwischen MDMA („Ecstasy“) und dem neuerdings als sog. KO.-Mittel eingesetzten „Liquid Ecstasy“ (GHB) kein struktureller Zusammenhang besteht. Es ähneln sich lediglich einige Komponenten im Wirkungsspektrum.

Amphetamin wurde erstmals 1887 synthetisiert und kam 1930 als Arzneimittel gegen Schnupfen auf den Markt. Die Beobachtung seiner psychostimulierenden Wirkung führte 1934 zur Synthese des noch stärker stimulierenden und länger wirkenden Methamphetamins. Dieses wurde unter der Handelsbezeichnung Methedrine zunächst gegen Leistungsschwäche und Lungenerkrankungen angewandt.

Bis Mitte der 40er Jahre des vergangenen Jahrhunderts wurden Amphetamine für etwa 40 medizinische Indikationen zugelassen, ohne sich jedoch als Therapeutika zu bewähren.

Während des Zweiten Weltkrieges wurden Amphetamine in großen Mengen hergestellt und vor allem wegen ihrer stimulierenden und schlafverhindernden Wirkung vorwiegend von Soldaten konsumiert. Ende der 40er Jahre waren sie zunächst auch unter Lastwagenfahrern und Studenten verbreitet, fanden aber in den folgenden Jahrzehnten immer weitere Konsumentengruppen. Das als Ecstasy bekannte Amphetaminderivat MDMA wurde erstmals 1914 synthetisiert, nachdem die Darmstädter Firma E. Merck bereits zwei Jahre zuvor das Patent hierzu erhalten hatte. Es wurde eine Zeitlang als Appetitzügler eingesetzt. vor allem wegen seiner Kommunikations- und kontaktfördernden Wirkung wurde MDMA in den USA bis 1985 und in der Schweiz bis 1993 in der Psychotherapie eingesetzt. Ende der 60er Jahre wurden MDMA (Ecstasy) und das ihm nah verwandte MDA als sogenannte „Liebesdroge“ zunächst unter den Hippies in Kalifornien populär. Seit Mitte der 70er fanden die Substanzen in den USA und in Großbritannien und - seit Anfang der 90er - auch in Deutschland zunehmende Verbreitung.

MDA (3,4-methylenedioxyamphetamin), auch als „Love-Drug“ bekannt, ist ein halluzinogenes Amphetaminderivat ohne medizinisch-therapeutische Anwendungsmöglichkeit. Obwohl es ursprünglich zur Erleichterung der psychotherapeutischen Behandlung hergestellt wurde, wird es heute nur noch missbräuchlich benutzt.

MDE (3,4-methylenedioxy-N-methylamphetamin), auch als „Eve“ bekannt, ist das N-Ethyl Analogon von MDA.

MDMA (3,4-methylenedioxy-N-methylamphetamin), auch bekannt als „Adam“, „Ecstasy“ oder „XTC“ ist das N-Methyl Analogon von MDA. Die indirekte sympathomimetische Wirkung wird vorherrschend von Euphorie, Antriebssteigerung und Stimmungsaufhellung bestimmt.

Kinetik

Absorption

Amphetamine werden oral aufgenommen und hauptsächlich erst nach der Magenpassage resorbiert, da der saure pH-Wert der Magensäure eine Aufnahme stark behindert. Im nicht mehr ganz so sauren Milieu des Darmes werden die Amphetamine dagegen von den Verdauungssäften adsorbiert. Plasmakonzentrationen sind jedoch gering, da die Plasmaproteinbindung niedrig (16 %) und das Verteilungsvolumen sehr groß ist (3,2 – 5,6 L/kg). Daher findet man auch die niedrigsten Konzentrationen im Serum und Fettgewebe und die höchsten in der Niere und Lunge.

Biotransformation

In vitro- und in vivo-Metabolisierungen führen zu N-Hydroxy-Derivaten, die eventuell weiter zu Oximen oder Nitronen und schließlich zum Benzylmethylketon oxidiert werden. Neben einerseits unverändert renal ausgeschiedenem Amphetamin beobachtet man andererseits durch Lebermikrosomen Hydroxylierung in p-Stellung und Seitenkettenoxidation.

MDMA und MDEA werden teilweise zu MDA desalkyliert. Im Urin erscheinen 65 % einer MDMA-Dosis unverändert und 7 % als MDA. MDA selbst wird nicht verstoffwechselt und kann damit vollständig im Urin nachgewiesen werden.

Die Halbwertszeit von Amphetaminen und deren Derivaten beträgt ca. 6-7 Stunden. Die Nachweisbarkeitsdauer im Urin beträgt ca. 24-48 h (max. bis 72 h). Hierbei ist jedoch zu beachten, dass die Ausscheidung stark von dem pH-Wert des Urins abhängig ist (s. auch Abschnitt 7 dieser Arbeit).

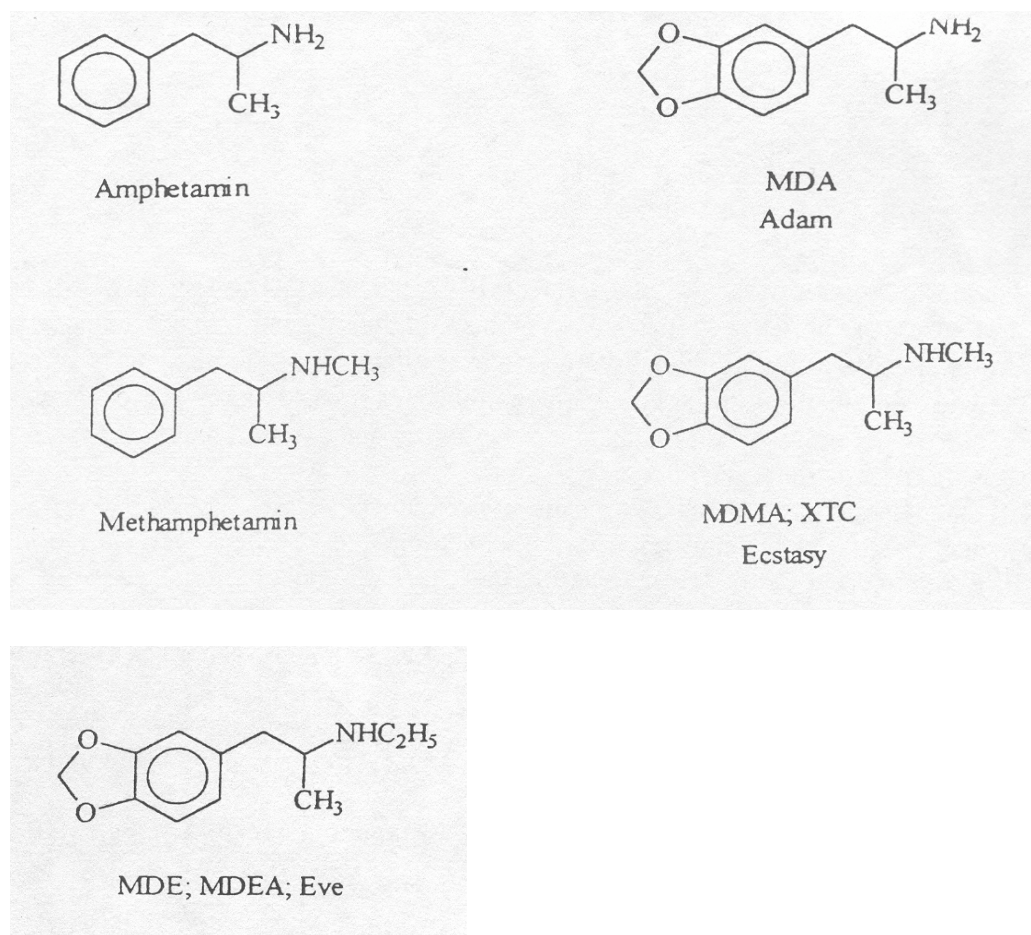


Abbildung 2:
Strukturformeln von Amphetamin, Methamphetamin, MDA, MDMA und MDE

Elimination

Der Abbau des Amphetamins erfolgt in der Leber durch oxydative Desaminierung. Amphetamin wird aber auch zu 35 % unverändert über den Harn ausgeschieden. Der Anteil des unverändert ausgeschiedenen Amphetamins wird um so größer je saurer der Urin ist, wie Tierversuche ergeben haben.

Wirkungscharakter

Die Amphetamine zählen zu der Gruppe der Psychopharmaka und werden innerhalb dieser Gruppe als Psychostimulantien bezeichnet. Psychostimulantien steigern die psychische Aktivität. Sie sollen das Gefühl von Müdigkeit und Abgespanntheit beseitigen sowie die Konzentrations- und Leistungsfähigkeit steigern. Bei starker Überdosierung wirken sie als Krampfgifte. Bei den sehr stark wirksamen Amphetaminen besteht bei unkontrollierter Einnahme aufgrund der schlafverhindernden Wirkung die Gefahr eines Schlafdefizits und damit verbunden einer absoluten Erschöpfung, sobald die körperlichen Reserven verbraucht sind. Bei regelmäßiger Anwendung führen Amphetamine rasch zu Gewöhnung und Abhängigkeit.

Sie leiten sich von den Katecholaminen bzw. vom Ephedrin ab. Durch den Wegfall der Hydroxylgruppen ist die Lipophilie deutlich erhöht und die Substanzen können somit die Blut-Hirn-Schranke leichter überwinden. Ihre Wirkung beruht hauptsächlich auf der Freisetzung von Katecholaminen, es sind somit indirekt wirkende Sympathomimetika. Die zentralerregende Wirkung, die das klinische Bild weitgehend bestimmt, ist besonders ausgeprägt. Daneben besitzen diese Verbindungen noch eine deutliche periphere sympathomimetische Wirkung. Die Wirkung der freigesetzten körpereigenen Katecholamine erfolgt an den sogenannten Adrenozeptoren, welche nach der Hypothese von Ahlquist (1948), in α_1 -, α_2 -, β_1 - und β_2 -Rezeptoren unterteilt werden können (Küttler 1996).

Amphetamin und Methamphetamin rufen bei nicht ermüdeten Personen eine leichte Euphorie, erhöhtes Selbstvertrauen und gesteigerte Aktivität hervor. Bei ermüdeten Personen schwinden Müdigkeit und Schläfrigkeit, die Leistungsfähigkeit steigt wieder an und bleibt mehrere Stunden erhalten. Aufgrund dieser Eigenschaften werden Amphetamine auch missbräuchlich als Doping-Mittel verwendet.

Unmittelbar nach dem Abklingen der Wirkung stellt sich oft eine Depression ein, meist einhergehend mit Müdigkeit, Erschöpfung und Konzentrationsschwäche, die zu einer erneuten Einnahme konditioniert, zumal sie durch erneute Zufuhr schnell, aber nur vorübergehend, zum Verschwinden gebracht werden kann. Eine körperliche Abhängigkeit von Psychostimulantien ist

nicht bekannt. Jedoch könnte die Depressivität als Entzugssymptom interpretiert werden. Gegen Psychostimulantien entwickelt sich schnell eine Toleranz, vor allem auch gegen die appetithemmende Wirkung. Die Toleranzentwicklung ist der Hauptgrund für die häufige Dosissteigerung. Unter längerfristiger Einnahme von Psychostimulantien entwickelt sich oft eine paranoid-halluzinatorische Psychose, die in der Symptomatik kaum von einer Schizophrenie unterschieden werden kann.

Symptome einer akuten Vergiftung mit Psychostimulantien sind Enthemmung, Erregung, Tremor, Hyperthermie, Hyperventilation, Tachykardie bis hin zu Herzrhythmusstörungen, Blutdruckerhöhungen, optische und akustische Halluzinationen, Krämpfe, Mydriasis. Die Therapie der akuten Vergiftung mit Psychostimulantien erfolgt symptomatisch, beispielsweise in Form einer Sedierung mit Diazepam oder durch Beseitigung von Herzrhythmusstörungen und Blutdruckerhöhungen mit Hilfe von β -Blockern.

2.2 Pharmakodynamik und –kinetik der Cannabinoide

Allgemeines

Cannabis ist eine Gattung der Hanfgewächse (Cannabaceae) mit psychoaktiven Wirkstoffen, die in Form von Haschisch oder Marihuana als Rauschmittel konsumiert werden.

Haschisch besteht im Wesentlichen aus dem Harz der Blütenstände der weiblichen Hanfpflanze. Bei Marihuana handelt es sich überwiegend um getrocknete und zerkleinerte Pflanzenteile der weiblichen Cannabispflanze, vor allem der Stängel, Spitzen, Blätter und Blüten. Hauptwirkstoff der Cannabispflanze ist das Tetrahydrocannabinol (THC), dessen Gehalt jedoch je nach Pflanzensorte stark schwankt.

Cannabis besitzt eine Jahrtausende alte Tradition als Nutz- und Heilpflanze und gehört zu den ältesten bekannten Rauschmitteln. Aus China ist bekannt, dass dort bereits im frühen 3.

Jahrtausend v. Chr. Hanf angebaut und für die Herstellung von Kleidern und Seilen und - etwa seit 2.000 v.Chr. - auch als Heilmittel verwendet wurde.

Kinetik

Resorption

Cannabiszubereitungen werden meist geraucht, oft mit Tabak vermischt, da sich die aufgenommene Rauschgiftmenge und damit der Rauschzustand auf diese Weise besser steuern lassen als bei oraler Aufnahme. Das Rauchen mittels Wasserpfeifen oder durch die hohle Hand (Nebenluft kühlt den Rauch) ermöglicht ein tieferes Inhalieren und damit eine gesteigerte

Wirkung. Nur ein geringer Teil (ca. 20 %) des in der Zigarette oder der Pfeife vorhandenen oder durch Decarboxylierung aus den entsprechenden THC-Carbonsäuren gebildeten THC erreichen den Blutstrom. Der Rest unterliegt Pyrolysereaktionen, verbleibt im Teer und in der Asche oder wird wieder abgeatmet.

Die orale Aufnahme durch Kauen oder in Form von Getränken bzw. Speisen, für die es regelrechte Kochbücher gibt, ist weniger häufig, zumal die für einen gleichartigen Rauschzustand benötigte Cannabismenge ca. 2 bis 3 mal höher liegt als beim Rauchen.

Biotransformation

Beim Menschen sind Pharmakokinetik und Ausscheidung von THC noch nicht vollständig geklärt, obwohl bereits zahlreiche grundlegende Erkenntnisse vorliegen. Nach Inhalation beobachtet man maximale Blutspiegel bereits nach wenigen Minuten und einen zunächst sehr schnellen Abfall. Aus dem Blut, in dem es zu ca. 99 % an Plasmaproteine gebunden vorliegt, verschwindet THC relativ schnell vor allem in lipidhaltige Gewebe.

Die beiden wichtigsten Metaboliten im Blut des THC sind das zum größten Teil in der Leber unter Katalase des Cytochrom-P-450-Enzymsystems gebildete 11-OH-THC und die daraus durch weitere Oxidation gebildete THC-Carbonsäure (THC-COOH), die auch überwiegend, mit Glucuronsäure konjugiert, als hauptsächlicher Metabolit im Urin festzustellen ist. Während 11-OH-THC eine mit THC vergleichbare oder leicht stärkere Wirkung besitzt, ist THC-COOH pharmakologisch inaktiv. 11-OH-THC tritt jedoch nach dem Rauchen im Blut nur in sehr geringen Konzentrationen auf (max. 10 % des THC-Gehalts), sodass sein Einfluss im Gegensatz zu den Verhältnissen bei oraler Aufnahme gering ist.

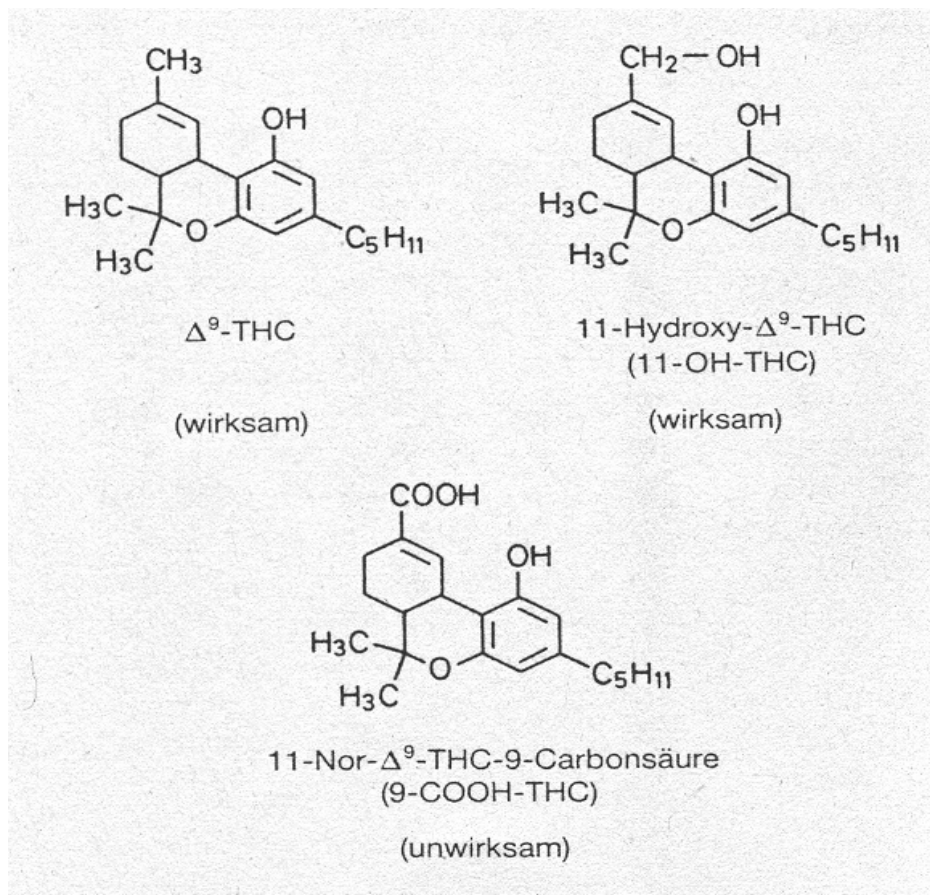


Abbildung 3: THC und seine Metaboliten 11-OH-THC und THCCOOH (Peat u. Peat 1994)

Elimination

Für die Elimination aus dem Organismus sind die Rückverteilung und der Metabolismus entscheidend. Als Plasma-Eliminationshalbwertszeit werden ca. 20-30 Stunden angegeben. THC wird fast vollständig zu zahlreichen Stoffwechselprodukten metabolisiert. Ungefähr 70 % einer THC Dosis werden innerhalb von 3 Tagen in den Fäzes (ca.40 %) und im Urin (ca.30 %) als Metaboliten ausgeschieden, wobei unverändertes THC im Urin in sehr geringen Spuren auftritt. Metabolisierungsprodukte lassen sich im Urin nach einmaliger Applikation noch nach ca. 7 Tagen nachweisen, während nach chronischem Gebrauch positive Urinbefunde bis zu 4 Wochen zu beobachten sind.

Wirkungscharakter

Cannabinoide zählen zu der großen Gruppe der Psychopharmaka und werden hier in die spezielle Untergruppe Psychodysleptika (Halluzinogene) eingeordnet. Psychodysleptika rufen bei Gesunden – akut und vorübergehend – einen einer Schizophrenie ähnlichen Zustand hervor.

Neben Störungen der Beziehung zur Umwelt und der „Ichempfindung“ treten Halluzinationen auf, Wirklichkeit und illusionäre Wahrnehmungen können nicht unterschieden werden. Man bezeichnet eine derartige, durch chemische Substanzen hervorgerufene Psychose als Modellpsychose, da sie in wesentlichen Zügen einer endogenen Psychose gleicht. Der Missbrauch von Psychodysleptika, die durch die Betäubungsmittel-Gleichstellungsverordnung nun mehr zu den Betäubungsmitteln gezählt werden, hat in den letzten Jahren erheblich zugenommen. Der genaue Wirkungsmechanismus der Cannabinoide ist noch nicht sicher geklärt, man weiß jedoch, dass die Wirkung stark von der äußeren Umgebung (Gruppeneinflüsse), der Persönlichkeitsstruktur, der Applikationsart und natürlich der Dosis abhängt. Nach einem Gefühl der Erregung oder Spannung folgt meist ein Zustand scheinbar gesteigerter Wahrnehmungsfähigkeit verbunden mit Wahnvorstellungen.

Als körperliche Symptome nach häufigem Haschischrauchen wurden Konjunktivitis, Bronchitis, asthmoide Beschwerden, Ataxie und Tremor beobachtet. Bei chronischem Abusus besteht die Gefahr des Persönlichkeitsverfalls. Die größte Gefahr von Haschisch ist jedoch darin zu sehen, dass es als „Einstiegsdroge“ dienen kann, von der, sofern seine Wirkung nicht mehr befriedigt, auf stärkere Substanzen „umgestiegen“ wird.

Typische akute Cannabiswirkungen sind Antriebsschwäche, Störungen der Wahrnehmung, Konzentrationsfähigkeit und Aufmerksamkeit sowie gestörtes Denken. Zudem werden Synästhesien, atypische Rauschverläufe und Nachräusche („flash-back“) erlebt. Ein atypischer Rauschverlauf führt zu Angst und Panik statt zu Euphorie und kann praktisch jederzeit auftreten, auch wenn zuvor ein euphorischer Zustand erreicht wurde. „Flash-back“- Symptome können noch lange nach dem letzten Cannabiskonsum unvermittelt und ohne erkennbaren Anlass auftreten. Chronischer Cannabiskonsum führt zu psychischer Abhängigkeit. Im Gegensatz zu Morphin sollen keine Abstinenzsymptome auftreten.

2.3 Pharmakodynamik und –kinetik des Kokain

Allgemeines

Kokain wird mit Hilfe verschiedener chemischer Prozesse aus den Blättern der Kokapflanze (*Erythroxylon coca*) gewonnen. Der Kokastrauch ist in Südamerika heimisch, wo er vermutlich bereits 2.500 v. Chr. als Kulturpflanze angebaut wurde. Vor allem in Peru und Bolivien hat das Kauen der unverarbeiteten Kokablätter eine jahrhundertlange Tradition. Zunächst war der Genuss der Kokablätter nur im Rahmen kultischer Handlungen erlaubt. Mit der spanischen Eroberung breitete sich der Konsum jedoch bald unter der einheimischen Bevölkerung aus, die

mit Hilfe dieser Droge versuchte, sowohl ihren Hunger zu unterdrücken als auch die Leistungsfähigkeit und Ausdauer bei der schweren Arbeit zu steigern.

In den 50er Jahren des 19. Jahrhunderts wurde das aktive Alkaloid des Kokastrauches erstmals chemisch isoliert und erhielt die Bezeichnung „Kokain“. Schon bald wurde diese Substanz zur Behandlung von Depressionen und zur lokalen Betäubung vor allem bei Augenoperationen eingesetzt.

Die Blätter des Kokastrauches enthalten etwa 1 % des als Kokain bekannten Alkaloids. In den Erzeugerländern wird der Kokaingehalt jedoch gewöhnlich durch Extraktion angereichert. Die dadurch entstehende Coca-Paste wird zu Kokainhydrochlorid - einem Salz der Salzsäure - weiterverarbeitet. Diese farb- und geruchlose bitter schmeckende Substanz gelangt - unter Beimischung von Streckmitteln - in pulverisierter Form als Koks oder Schnee auf den illegalen Markt.

Kinetik

Resorption

Kokain kann auf verschiedenen Wegen in den Organismus gelangen, nach Caplan (1994) zu etwa 61 % intranasal, zu 21 % inhalativ (z.B. als Crack) und zu 18 % intravenös.

Da Kokain stark hygroskopisch ist und somit verklumpt, muss es vor dem intranasalen Zuführen zerkleinert werden, um es wieder in Pulverform zu bringen. Die intranasale Zufuhr der Droge bietet eine Bioverfügbarkeit von 25 – 80 %. Die größte nahezu 100 % ige Bioverfügbarkeit wird durch die intravenöse Injektion erzielt. Inhalativ zugeführtes Kokain, beispielsweise in Form von Crack, erreicht eine maximale Bioverfügbarkeit von ca. 57 %.

Biotransformation

Kokain wird zu Benzoylecgonin und Methylecgonin auf unterschiedlichem Weg verstoffwechselt. So wird Methylecgonin bei der Leberpassage mit Hilfe von Esterasen gebildet, während Benzoylecgonin durch Hydrolyse im gesamten Körper entsteht.

Methylecgonin und Benzoylecgonin werden jedoch beide in das gleiche metabolische Stoffwechselprodukt überführt, das Ecgonin.

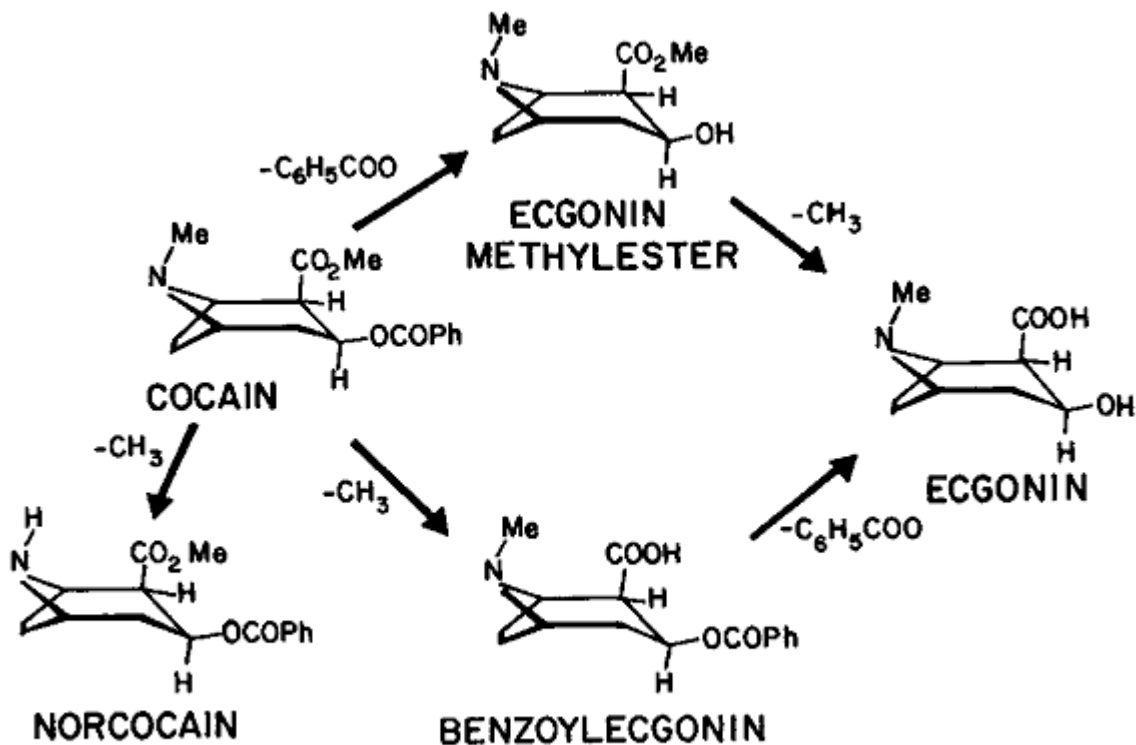


Abbildung 4:
Metabolisierung von Kokain (Caplan 1994)

Ein weiterer Metabolit des Kokains ist Norkokain, von dem man nachweisen konnte, dass es trotz sehr kleiner Konzentrationen durch die Umwandlung in ein Stickstoffoxid für die erhebliche Hepatotoxizität verantwortlich ist.

Die gleichzeitige Einnahme von Alkohol und Kokain führt zu einem weiteren Stoffwechselprodukt, dem Cocethylen. Dieses entsteht ebenfalls in der Leber, jedoch durch Veresterung der beiden Teilkomponenten. Cocethylen ist eine pharmakodynamisch aktive Substanz, deren pharmakologische Effekte denen des Kokains sehr stark ähneln. Cocethylen ist jedoch um ein vielfaches toxischer als Kokain. Somit und auch wegen seiner längeren Halbwertszeit erklärt Cocethylen vielleicht die Kardiotoxizität, die trotz des aus dem Blut bereits eliminierten Kokains noch verbleibt.

Elimination

In einer Studie (Caplan 1994) wurden intravenöse und inhalative sowie intravenöse und intranasale Kokainaufnahmen hinsichtlich der Wirkungsmaxima nach Aufnahme und Elimination

miteinander verglichen. Hierzu wurde die Konzentration von Kokain (C) und Benzoylecgonin (BE) im Blut untersucht.

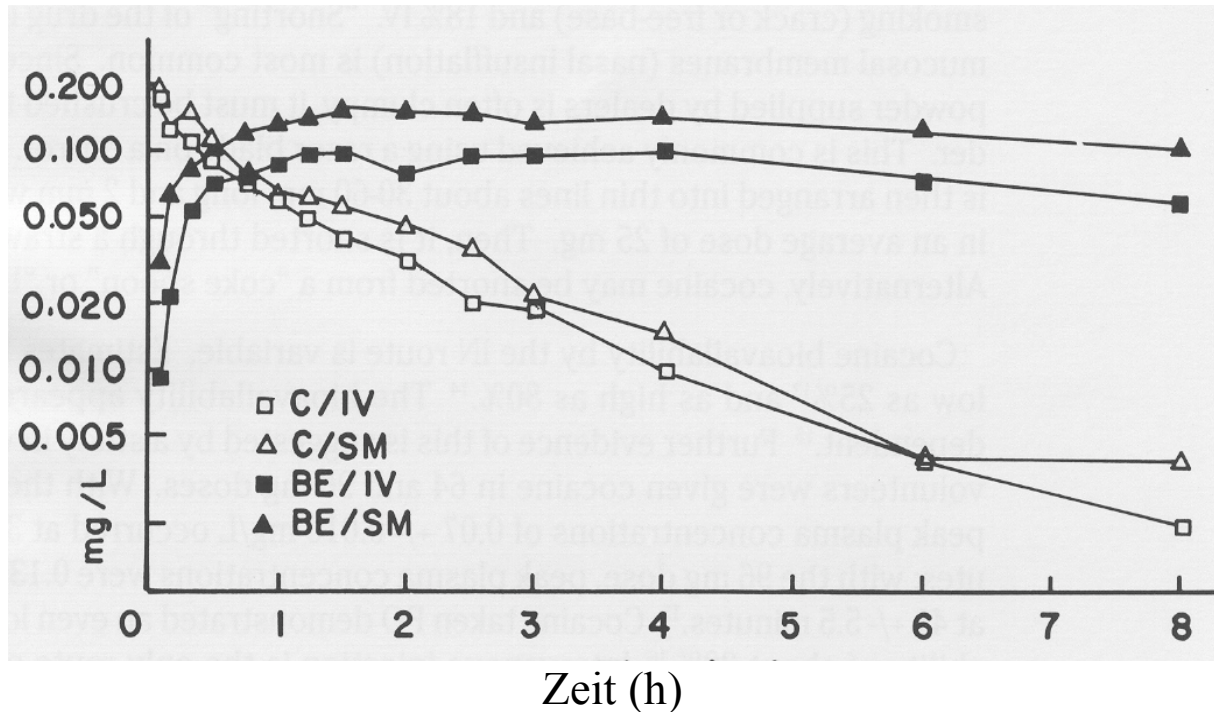


Abbildung 5: Vergleich der Plasmakonzentration von Kokain (C) und Benzoylecgonin (BE) nach intravenöser (IV) oder inhalativer Applikation (SM); (Caplan 1994)

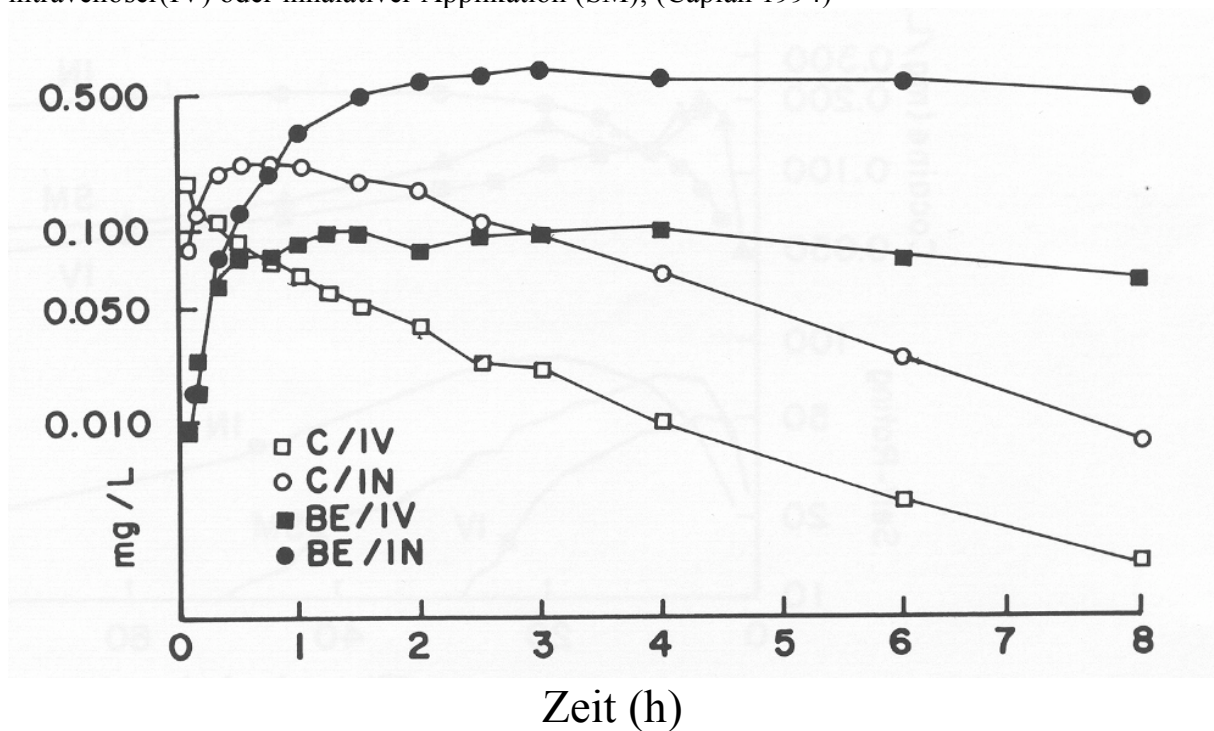


Abbildung 6: Vergleich der Plasmakonzentration von Kokain (C) und Benzoylecgonin (BE) nach intravenöser (IV) oder intranasaler Applikation (IN); (Caplan 1994)

Bei der intravenösen Aufnahme zeigt sich erwartungsgemäß das Peakmaximum hinsichtlich der Plasmakonzentration von Kokain am schnellsten, nahezu sofort nach der Injektion. Das Maximum des inhalativ aufgenommenen Kokains erscheint jedoch erst ca. 5 min. nach der Inhalation, hat aber, wie auch nach intravenöser Aufnahme, ein Benzoyllecgoninmaximum bei 1,5 Stunden. Weitaus später ist das Konzentrationsmaximum von Kokain bei der intranasalen Aufnahme zu beobachten, denn erst nach ca. 44 min. ist ein Peakmaximum zu verzeichnen. Auch die Benzoyllecgoninmaximalkonzentration ist zeitlich etwas versetzt und erscheint erst nach 3 Stunden, zeigt aber nach Erreichen dieses Maximums die nächsten 5 Stunden keine Änderung und bleibt ähnlich hoch.

Kokain und seine Metaboliten werden über die Niere durch einfache Filtration aus dem Körper ausgeschieden.

Wirkungscharakter

Kokain zählt im pharmakologischen Sinn zu den Lokalanästhetika vom Estertyp. Über den Wirkungsmechanismus der Lokalanästhetika ist bekannt, dass sie die Membranpermeabilität für Kationen, insbesondere für Natriumionen, herabsetzen. Die Blockade von Ionenkanälen, insbesondere die des Natriumkanals, durch Lokalanästhetika beruht auf folgendem Mechanismus: Alle Lokalanästhetika lagern sich aufgrund ihrer lipophilen Eigenschaften in die Zellmembran ein und verschließen durch unspezifische Membranexpansion den Natriumkanal. Somit ist die Fortleitung eines Aktionspotentials und damit eines Reizes nicht mehr möglich, da die hierfür notwendige Depolarisation der Nervenzelle, die durch Natrium- und Kaliumionenverschiebungen entsteht, blockiert ist.

Kokain diente bei der Entwicklung der Lokalanästhetika als Modellsubstanz, ist jedoch wegen seiner hohen Toxizität und suchterzeugenden Wirkung heute obsolet. Es ist außerdem das einzige Lokalanästhetikum, das durch Blockade der Wiederaufnahme von Noradrenalin in das Axon vasokonstriktorisch wirkt.

Die häufigsten klinischen Erscheinungen bei einer akuten Kokainintoxikation sind akute Psychosen und epileptische Anfälle in Form eines „grand-mal“-Anfalls. Außerdem kommt es zu kardiovaskulären Symptomen wie z.B. ventrikulären Arrhythmien und respiratorischer Dysfunktion mit Cheyne-Stokes-Atmung bis hin zur vollständigen Atemlähmung. Außerdem zählen Schwitzen, weite Pupillen (Mydriasis), Schock und Krämpfe zur Symptomatik einer akuten Kokainintoxikation.

Symptome einer chronischen Kokainintoxikation sind neben den psychischen Veränderungen (z.B. völlige Enthemmung, Störungen des logischen Denkens, Weitschweifigkeit und

Persönlichkeitszerfall) Schnupfen, Nasenseptumperforation, Kurzatmigkeit, Kaltschweißigkeit, Tachykardie, Tachypneu, hyperkinetisches Verhalten sowie erhöhte Gewaltbereitschaft.

2.4 Pharmakodynamik und –kinetik der Opiate

Allgemeines

Seit dem klassischen Altertum ist die analgetische und berauschende Wirkung des Mohnsaftes bekannt. Opium wird aus dem Saft angeschnittener unreifer Früchte des Schlafmohns (*Papaver somniferum* Linné) gewonnen. Der an der Luft getrocknete Saft enthält eine Vielzahl von Alkaloiden, von denen Morphin das bekannteste ist. Morphin ist außerdem das Hauptalkaloid und wird hauptsächlich für die analgetische Wirkung verantwortlich gemacht. Es wurde 1805 von F.W.A. Sertürner rein dargestellt und seither in der Medizin verwendet.

Außerdem leiten sich vom Morphin und Codein halbsynthetische Derivate ab, von denen die wichtigsten Vertreter das Diacetylmorphin (Heroin), der Heroinmarker Monoacetylmorphin (MAM) und Dihydrocodein sind.

Kinetik

Resorption

Morphin kann oral, sublingual, intranasal, bronchial, rektal oder in Form von Injektionen (subcutan, intravenös oder intramuskulär) aufgenommen werden. Die Aufnahme von Codein und Dihydrocodein erfolgt hauptsächlich über den Magen-Darmtrakt nach oraler Applikation.

Biotransformation

Morphin durchläuft nach oraler Aufnahme einen „first-pass-effect“, d.h. es wird nach der Resorption aus dem Darm schon bei der ersten Leberpassage metabolisiert, vor allem glucuronidiert und sulfatiert. Bei oraler Aufnahme von Morphin beobachtet man im Blut immer sehr viel höhere Konzentrationen an Morphinkonjugaten (ca. 10-20 facher Wert) als an freiem Morphin.

Nach einer i.v. Injektion nimmt die Plasmakonzentration von unverändertem Morphin mit einer Halbwertszeit von etwa 2,5 bis 3 Stunden ab.

Beim Menschen werden ca. 5 % des Morphins zu Normorphin N-demethyliert.

Der wichtigste Metabolisierungsschritt für die Metabolisierung und Ausscheidung von Codein ist die in der Leber stattfindende 6-O-Glucuronidierung. Forensisch am bedeutsamsten ist dagegen die zu Morphin führende 3-O-Demethylierung.

Heroin wird im Blut und in sehr vielen Geweben schnell zu Monoacetylmorphin (MAM) und dann weiter zu Morphin deacetyliert.

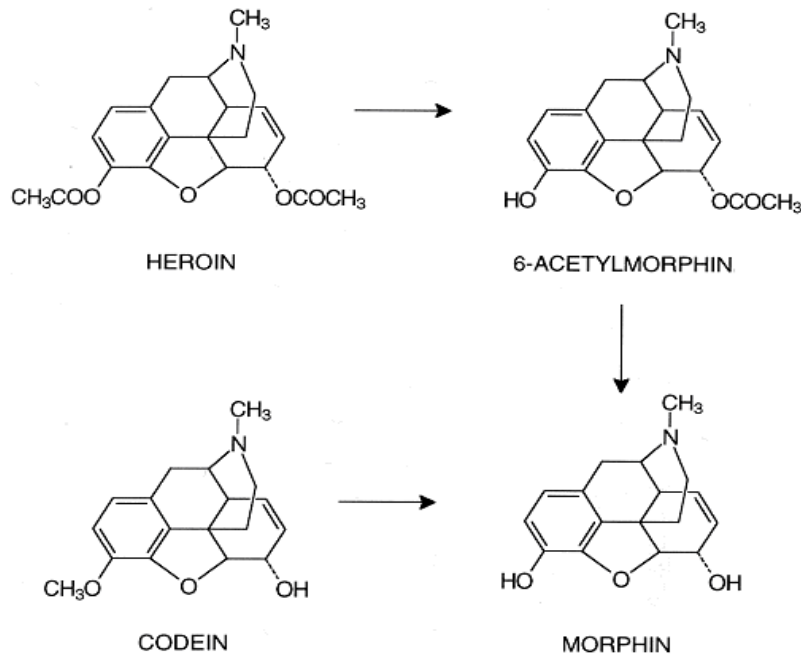


Abbildung 7:
Metabolismus wichtiger Opiate (Pfleger et al. 2002)

Elimination

Die Ausscheidung von Morphin erfolgt im Urin hauptsächlich als Glucuronid wobei das 3-O-Morphinglucuronid mit ca. 75 % die Hauptkomponente bildet. Unverändertes Morphin wird zu etwa 10 % beobachtet. Bis zu 10 % einer Dosis können auch über die Galle ausgeschieden werden, wobei ein enterohepatischer Kreislauf zu einer deutlich verlängerten Nachweisdauer führen kann.

Codein wird zu 10-20 % in Form von Morphin bzw. dessen Konjugaten ausgeschieden, wobei dieser Prozentsatz wohl als Folge der unterschiedlichen O-Demethylisierungsaktivitäten des Cytochrom-P-450-Enzymsystems der Leber starken individuellen Schwankungen unterliegt.

Für die Halbwertszeiten von Heroin wurden in vitro 9 bis 38 Minuten bestimmt. Nach einer i.v. Infusion von 70 mg Heroinhydrochlorid über 7 Stunden wurden im Urin des Probanden ca. 40 % als Morphin, ca. 1,5 % als MAM und nur 0,1 % als unverändertes Heroin nachgewiesen.

Wirkungscharakter

Die pharmakologischen Effekte der Opiate sind abhängig von der Interaktion des Opiates mit Opiatrezeptoren in Gehirn und Rückenmark. Aufgrund von Bindungsmessungen mit Agonisten

und Antagonisten, die an den Opiatrezeptoren angreifen, werden verschiedene Rezeptorsubtypen unterschieden, die man als μ -, χ - und δ -Rezeptoren bezeichnet. Die Wirkungsdauer der einzelnen Opiate ist sehr unterschiedlich und bewegt sich zwischen 3 und 6 Stunden.

Aufgrund des gemeinsamen Angriffs an den Opiatrezeptoren ist das Wirkungsprofil der verschiedenen Opiate sehr ähnlich. Es bestehen vorwiegend – auch innerhalb der einzelnen Wirkungskomponenten – lediglich quantitative Unterschiede.

Zentrale Wirkungen:

- analgetische Wirkung
- sedative Wirkung
- tranquillisierende Wirkung
- euphorische oder auch dysphorische Wirkung
- atemdepressive und antitussive Wirkung
- zunächst emetische , später antiemetische Wirkung
- miotische Wirkung
- antidiuretische Wirkung
- Abhängigkeit

Periphere Wirkungen :

- Magenentleerungsstörung durch Pyloruskonstriktion
- spastische Obstipation
- Gallenblasensphinkterkontraktion
- Harnblasenkontraktion
- Gefäßtonusverringerung und orthostatische Dysregulation
- Histaminfreisetzung und Bronchospasmus

Die akute Opiatvergiftung ist durch tiefes Koma mit oberflächlicher, fast fehlender Atmung und maximaler Verengung der Pupillen (typische Trias: Bewusstlosigkeit, Atemdepression und Miosis) sowie Zyanose, kalte Haut und Hypothermie gekennzeichnet. Der Tod tritt durch Atemlähmung ein. Bei der Therapie der Opiatvergiftung steht die Behebung des Sauerstoffmangels im Vordergrund. Neben künstlicher Beatmung haben sich intravenöse oder intramuskuläre Injektionen eines Opioidantagonisten wie Naloxon bewährt.

3. Das Untersuchungsmaterial

Klassische Untersuchungsmaterialien

3.1 Harn

Für **Screeninganalysen** wird in der Regel **Harn** benötigt. Vorteile dieses Untersuchungsmaterials sind u.a.:

- **Fremdstoffe sind im Harn meist in höheren Konzentrationen vorhanden als im Blut.**
- **Fremdstoffe können im Harn meist länger nachgewiesen werden als im Blut.**
- **Der Nachweis der im Harn besonders zahlreich enthaltenen Stoffwechselprodukte (Metaboliten) kann eine wertvolle zusätzliche Interpretationshilfe sein.**
- **Harn kann ohne invasive Entnahmetechniken gewonnen werden. Für die Asservierung von Blut fehlen dagegen häufig die rechtlichen Grundlagen.**
- **Die Probenvorbereitung für die meisten Analysenmethoden ist bei Harn einfacher als bei Blut.**

Diesen Vorteilen von Harn als Untersuchungsmaterial für **Screeninganalysen** stehen kaum Nachteile gegenüber. Lediglich kurze Zeit nach der Einnahme eines Fremdstoffes kann der Fall eintreten, dass trotz bereits deutlich messbarer Konzentrationen im Blut ein Nachweis im Harn noch nicht möglich ist. Viel häufiger ist jedoch der umgekehrte Fall zu beobachten, wenn Drogen (z.B. Amphetamin, Kokain oder Opiate) im Blut bzw. Serum nach wenigen Stunden überhaupt nicht mehr, im Harn dagegen noch bis zu einigen Tagen nachweisbar sind. Vielfach können dabei zwar die Muttersubstanzen nicht mehr nachgewiesen werden, wohl aber mehr oder weniger charakteristische Metaboliten.

Die tageszeitlichen Konzentrationsschwankungen im **Harn** können allerdings zu Fehlinterpretationen führen, wenn etwa ein Anstieg von Konzentrationen mit einer erneuten Aufnahme eines Fremdstoffes interpretiert wird. In diesen Fällen hat sich die **Normierung** der Werte mit Hilfe der **simultanen Kreatininbestimmung** bewährt, für die folgende Beziehung gilt:

$$Q = \frac{\text{Drogen- bzw. Medikamentenkonzentration [ng/ml]}}{\text{Kreatininkonzentration [ng/ml]}}$$

Man erhält auf diese Weise einen dimensionslosen, allerdings sehr kleinen, Wert der die Ausscheidungsrythmik in der Regel wesentlich objektiver (geglätteter) darstellt als die nicht normierte Drogen- bzw. Medikamentenkonzentration im Harn. Ein wichtiges Beispiel ist die Ausscheidung der THC-Carbonsäure im Zusammenhang mit dem Nachweis von Cannabinoiden.

Obwohl die immunchemischen Verfahren selbst bei Anwendung des gesamten „Parameterspektrums“ nur wenige Milliliter Harn benötigen, sollten mindestens 20 bis 50 ml Harn asserviert werden, damit für Bestätigungsanalysen noch genügend Untersuchungsmaterial derselben Ausgangsprobe zur Verfügung steht.

Besondere Asservierungstechniken (z.B. Mittelstrahlurin, Zusatz von Konservierungsmitteln, sterile Entnahmebedingungen) sind nicht erforderlich, ebenso wenig eine besondere Vorbereitung des Patienten bzw. Probanden. Proben können auch nach vorangegangener Nahrungsaufnahme gewonnen werden. Alter, Geschlecht, Körpergewicht und Körpergröße sind für das analytische Resultat nicht relevant. Derartige Daten können allenfalls für die Interpretation der Ergebnisse im Einzelfall evtl. von Bedeutung sein.

Auf einen Zusatz von Säure, wie wiederholt in der Literatur empfohlen, sollte verzichtet werden. Ein solches Vorgehen kann zwar im Fall der Opiate vorteilhaft sein, würde aber beispielsweise den Nachweis der Benzodiazepine u.U. unmöglich machen, da diese dann zumindest partiell hydrolytisch in Aminobenzophenone ohne relevante Kreuzreaktivität überführt würden. Falsch negative Ergebnisse in den immunchemischen Testverfahren wären die Folge.

3.2 Blut/Serum

Die Vorteile von Blut bzw. Serum als Untersuchungsmaterial sind in der **Aktualität der analytischen Aussage** zu sehen, falls Blut in zeitlicher Nähe zu einem rechtserheblichen Ereignis (z.B. einer Straftat) entnommen wurde. Die exakt festgestellte Konzentration eines Fremdstoffes im Blut oder Serum reflektiert natürlich viel objektiver die toxische Beeinflussung zum Tatzeitpunkt als dies eine Harnkonzentration je könnte.

3.3 Mageninhalt und Magenspülflüssigkeit

Dieses Untersuchungsmaterial fällt meist bei Notfallanalysen im Zusammenhang mit akuten Vergiftungen an. Mageninhalt und Magenspülflüssigkeit eignen sich grundsätzlich für die immunchemische Analytik. Allerdings können extreme (meist saure) pH-Werte zu falschen Screeningresultaten führen.

Daher muss der pH-Wert stets sorgfältig überprüft und falls nötig auf Werte um den neutralen pH-Bereich (etwa pH 6 bis 8) eingestellt werden.

Weiterhin ist bei der Interpretation der Ergebnisse zu bedenken, dass im Mageninhalt häufig Substanzen in so hoher Konzentration vorliegen, dass selbst bei geringer Kreuzreaktivität in anderen Tests positive Ergebnisse vorgetäuscht werden können. Ein bekanntes Beispiel ist das Antihistaminikum/Sedativum Diphenhydramin, das trotz einer geringen Kreuzreaktivität unter 1% bei akuten Vergiftungen einen stark positiven Ausfall des Immunoassays auf trizyklische Antidepressiva bewirken kann.

3.4 Alternative Untersuchungsmaterialien

In der Literatur wird häufig über den Einsatz sog. **alternativer Untersuchungsmaterialien** berichtet, zu denen beispielsweise **Speichel**, **Schweiß** und **Haare** gehören. Die hiermit gewonnenen Analysenergebnisse können bei der Beantwortung bestimmter Fragestellungen von Bedeutung sein. Ein der Harn- oder Blutuntersuchung vergleichbarer Stellenwert kommt ihnen derzeit im Rahmen des allgemeinen Drogenscreenings jedoch noch nicht zu.

3.4.1 Speichel

Der Vorteil von Speichel besteht in der **nichtinvasiven** Probennahme, die bei Verwendung von Wattestäbchen ohne aktives Zutun des Probanden möglich ist. Im Gegensatz zum Harn besteht meist eine weitaus engere Korrelation zur Konzentration im Blut bzw. Serum, obwohl Speichel kein einfaches Filtrat von Blutplasma darstellt. Speichel stellt vielmehr ein Mischsekret der Drüsen *Parotis*, *Submandibularis* und *Sublingualis* dar und die Konzentration von Drogen oder Medikamenten wird im wesentlichen durch den pH-Wert des Speichels und die Art der reflektorischen Sekretion bestimmt, die ihrerseits durch chemische oder mechanische Reizung ausgelöst und beeinflusst wird. Das Untersuchungsmaterial Speichel sollte stärker als bisher in der toxikologischen Analytik berücksichtigt werden, da es eine wertvolle zusätzliche Interpretationshilfe darstellen kann. Andere gebräuchliche Untersuchungsmaterialien sollen jedoch durch Speichel nicht verdrängt werden.

3.4.2 Schweiß

Der Nachweis von Drogen und Medikamenten ist auch im Schweiß möglich, z.B. mit Hilfe von Pflastern oder des Wischtestes "Drug Wipe". Bei derartigen Untersuchungen ist jedoch unbedingt sicherzustellen, dass die auf der Haut nachgewiesenen Drogenspuren endogener Natur sind und nicht auf Verunreinigungen mit Staub- oder Pulverresten von Drogenzubereitungen zurückgehen. Weiterhin kann der Fall eintreten, dass sich bei mangelnder Körperpflege auch längere Zeit nach einer Drogeneinnahme noch eingetrocknete Substanzreste auf der Hautoberfläche befinden und einen positiven Nachweis bewirken, während eine Untersuchung von Blut oder Harn negativ verlaufen würde.

3.4.3 Haare

Haare als Untersuchungsmaterial bieten zahlreiche Vorteile hinsichtlich der **längerfristigen Rekonstruktion einer Fremdstoffaufnahme**.

Wird daher eine Blut- oder Harnprobe innerhalb weniger Stunden oder maximal etwa 3 Tagen (bei Cannabinoiden oder bestimmten Medikamenten mit langer Eliminationshalbwertszeit auch länger) sichergestellt, dann bereitet ein Nachweis in der Regel keine Schwierigkeiten. Liegt dagegen zwischen dem Tatzeitpunkt und der Festnahme eines Täters ein größeres Zeitintervall, so bietet allenfalls eine Haaranalyse noch Aussicht auf aussagekräftige Ergebnisse, da viele Fremdstoffe in das Haar eingelagert werden und darin mit der modernen hochempfindlichen Analysetechnik auch identifizierbar sind. Bei einem mittleren Haarwachstum von etwa 1 cm pro Monat kann man durch abschnittsweise Untersuchung von vorzugsweise Kopfharen zeitlich länger zurückliegende Fremdstoffaufnahmen rekonstruieren. Eine völlig andere Problematik tritt jedoch dann auf, wenn zwar ereignisnahe Sicherstellungen von Untersuchungsmaterial möglich waren, es sich jedoch nur um Spuren von Blut oder Urin handelt, die außerdem nach längerer Liegezeit häufig noch eingetrocknet sind und Umwelteinflüssen ausgesetzt waren. Ein Nachweis von Fremdstoffen in diesen Spuren gestattet jedoch wichtige und häufig verfahrensentscheidende Rückschlüsse auf eine Fremdstoffbeeinflussung zur Tatzeit.

Obwohl im Einzelfall auch andere (zumeist etwas höhere) Wachstumsraten beobachtet wurden, wird man mit einem Wert von etwa 10 bis 12 mm pro Monat der Realität meist recht nahe kommen. Die ersten 10 bis 12 mm über der Kopfhaut reflektieren somit die Fremdstoffaufnahme etwa der letzten 4 Wochen; analoge Überlegungen gelten für größere Haarlängen. Abhängig von der jeweiligen juristischen Fragestellung können, ähnlich wie bei der Begutachtung anderer Fremdstoffeinflüsse (z.B. der minimalen und maximalen Blutalkoholkonzentration) bei Bedarf "Szenarien" mit Mindest- bzw. Maximalwerten des Haarwachstums alternativ zur Diskussion gestellt werden.

Auswahl der Untersuchungsmaterialien: Harn und/oder Blut bzw. Haare?

Grundsätzlich kann man sagen, dass sich **Harn** wesentlich besser als **Blut** für die Überwachung der Drogenfreiheit eignet, da in ihm Fremdstoffe länger nachweisbar sind. Dies wäre beispielsweise bei Fragen der **Therapieüberwachung** oder **generellen Fahreignung** von Interesse. **Blut** bzw. **Serum** wären dagegen die wichtigsten Körperflüssigkeiten, wenn es beispielsweise um die Beurteilung der **aktuellen Wirkung** geht. Häufig bietet die Untersuchung beider Körperflüssigkeiten vertiefte Interpretationsmöglichkeiten hinsichtlich der Toxikokinetik und -dynamik.

Eine Untersuchung der **Haare** wäre schließlich dann anzuraten, wenn es um den Nachweis von Drogen- oder Medikamentenaufnahmen geht, die außerhalb der diagnostischen Fenster der Harn- oder Blutanalytik stattfanden, d.h. mehrere Tage, Wochen bzw. Monate zurückliegen. Dabei ist die Größe des diagnostischen Fensters sowohl vom applizierten Fremdstoff als auch von den Konsumgewohnheiten abhängig.

Anzahl der Proben

Wie bereits erwähnt wurde, muss grundsätzlich daran gedacht werden, dass insbesondere bei erstmaliger oder nur gelegentlicher Einnahme eines Wirkstoffes kurze Zeit nach der Applikation der Fall eintreten kann, dass trotz des Vorliegens einer pharma- oder toxikodynamisch relevanten Blutkonzentration noch keine analytisch nutzbare Ausscheidung in den Harn erfolgt. Es ist allerdings nicht einfach, diese "lag times" exakt zu quantifizieren. Als Erfahrungsregel gilt jedoch, dass bei den meisten hier behandelten Wirkstoffen spätestens etwa eine Stunde nach der Applikation mit einem positiven Nachweis im Harn gerechnet werden kann. Daher wird beispielsweise auch in zahlreichen Mitteilungen der Senatskommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Klinisch-toxikologische Analytik empfohlen, sofort nach der Aufnahme und etwa eine Stunde später eine Harnprobe zu asservieren und zu untersuchen.

Für die **Verlaufskontrolle** sind dann weitere Harnproben zu asservieren, wobei allerdings zu beachten ist, dass Schwankungen im Ausscheidungsrythmus (z.B. durch unterschiedliche Diurese, pH-Wert-Änderungen u.a. Effekte) durchaus dazu führen können, **dass in einer zeitlich später asservierten Harnprobe eine höhere Konzentration gemessen wird, ohne dass eine erneute Applikation des Fremdstoffes erfolgte**. Diesem Umstand wird offensichtlich wenig Beachtung geschenkt; durch seine Nichtbeachtung kann das Vertrauensverhältnis "Arzt-Patient" nachhaltig beeinträchtigt werden, von anderen Konsequenzen (z.B. strafrechtliche Folgen, Entzug des Therapieplatzes u.a.m.) ganz zu schweigen.

Die Schwankungen in der Harnausscheidungskurve können durch eine Korrektur über den Kreatiningehalt (s. auch Abschnitt 7 dieser Arbeit) weitgehend korrigiert werden.

Bei **chronischer Einnahme** wird man in der Regel davon ausgehen können, dass im Harn für einen Nachweis relevante Wirkstoffkonzentrationen vorhanden sind, d.h. "lag times" nur eine untergeordnete Rolle spielen.

4. Benutzte Analysenverfahren

4.1 Immunchemische Screeningverfahren (Immunoassays)

Grundprinzip aller Immunoassays.

Die Grundlage immunchemischer Verfahren ist die **Antigen-Antikörper-Reaktion**.

Antikörper (engl. antibodies), auch Immunglobuline oder Gamma-Globuline genannt, sind die Antwort des Immunsystems auf das Eindringen körperfremder Substanzen in den Organismus. Sie werden gebildet, um diese zu binden und damit unschädlich zu machen. Die Bildung von Antikörpern wird jedoch nur dann ausgelöst, wenn das eingedrungene Molekül eine gewisse

Mindestgröße (etwa 5000 Dalton) besitzt. Nur bei entsprechend hochmolekularen Substanzen reagiert also der Organismus mit der Bildung von Antikörpern. Man bezeichnet diese Substanzen daher als **Antigene** ("antibody-generating").

Antikörper sind auch außerhalb eines lebenden Organismus in der Lage, Antigene spezifisch zu binden, was man sich bei immunchemischen Tests zunutze macht. Diese Tests verwenden meist monoklonale Antikörper, die in Zellkulturen produziert werden und nur gegen eine der zahlreichen, unterschiedlichen Determinanten eines gegebenen Antigens gerichtet sind.

Bei der Erzeugung von Antikörpern gegen niedermolekulare Substanzen, wie z.B. Medikamente oder Drogen, bedient man sich großer Trägermoleküle (z.B. Bovine Serum Albumin, BSA), an welche diese Substanzen gekoppelt werden, um im Versuchstier immunogen zu wirken. Sind Antikörper erst einmal gebildet, so reagieren sie auch auf die niedermolekulare Substanz allein, die als **Hapten** bezeichnet wird.

Die Technik eines immunchemischen Nachweises kann sehr unterschiedlich sein. Meist werden sogenannte kompetitive Immunoassays verwendet, bei denen Antigene in der zu bestimmenden Probe mit markierten Antigenen aus dem Reagenz um eine beschränkte Menge an Antikörpern

konkurrieren (Abb. 8).

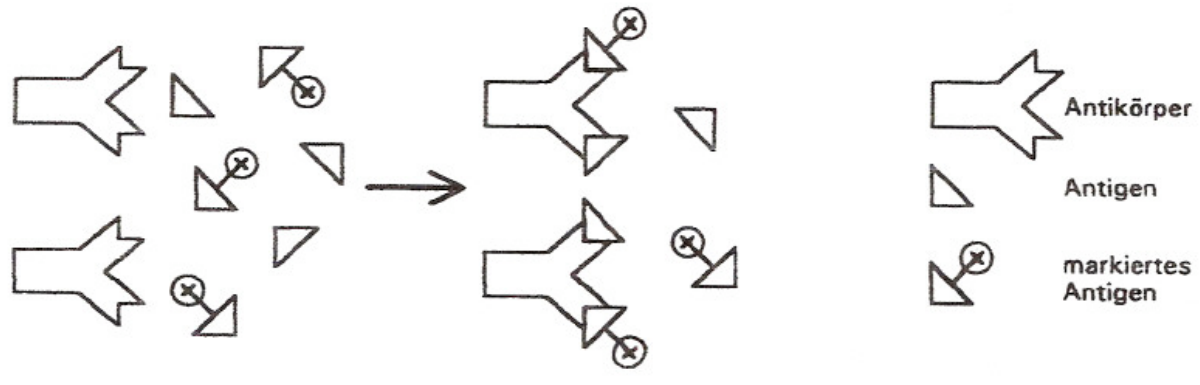


Abb. 8 Prinzip des kompetitiven Immunoassays (Blanke et al. 1990)

Sind wenig Antigene in der zu bestimmenden Probe vorhanden, so werden, da die Antigen-Antikörper-Komplexbildung eine Gleichgewichtsreaktion ist, viele markierte Antigene gebunden und nur eine geringe Zahl markierter Antigene bleibt frei in Lösung.

Nun kann prinzipiell entweder die Menge an gebundenem oder die Menge an freiem markiertem Antigen bestimmt werden, um Rückschlüsse auf die Konzentration in der Probe zu ziehen.

Je nach verwendetem Markierungs- und Messverfahren ist hierzu ein Trennschritt erforderlich oder nicht. Wird eine Trennung der gebundenen von den freien Antigenen durchgeführt, so handelt es sich um einen **heterogenen** Immunoassay. Beim **homogenen** Immunoassay hingegen ist kein Trennschritt erforderlich, was die Praktikabilität der Methode beträchtlich erhöht.

Die immunchemischen Methoden unterscheiden sich nach der Art der Markierung des Antigens im Reagenz. In klinischen und forensisch-toxikologischen Labors werden meist **Radioimmunoassays** (RIA), **Enzym-Immunoassays** (EIA) und **Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassays** (FPIA) eingesetzt. Inzwischen drängt zusätzlich eine Vielzahl visuell auswertbarer Tests auf den Markt, die an kolloide Goldpartikel konjugierte Antigene enthalten.

Der Radioimmunoassay (RIA)

Bei dieser Variante ist das Antigen **radioaktiv** markiert. Die Antigen-Antikörper-Komplexe müssen von freien Antigenen durch Zentrifugieren oder Abfiltrieren getrennt werden; es handelt sich daher um einen **heterogenen** Assay. Nach der Trennung kann die Radioaktivität, d.h. die Gamma-

Strahlung, entweder der freien oder der gebundenen markierten Antigene bestimmt werden. So sind anhand oft nicht linearer Kalibrierungsfunktionen Rückschlüsse auf die Menge an Antigen in der Probe möglich.

Dem Vorteil der hohen Empfindlichkeit des **Radioimmunoassays** stehen die Schwierigkeiten bei der Handhabung und insbesondere Entsorgung radioaktiver Materialien gegenüber. Aus diesem Grund werden radio-immunologische Verfahren in den letzten Jahren zunehmend von nicht-radioaktiven Methoden verdrängt.

Der Enzym-Immunoassay (EIA)

Bei allen Variationen dieser Technik dienen Enzyme als Markierungsreagenzien. Es konkurrieren Antigene aus der Probe mit Enzym-Markierten Antigenen um ein beschränktes Angebot an Bindungsstellen an den Antikörpern.

Man differenziert prinzipiell zwischen den EMIT- und den ELISA-Verfahren: Der **EMIT-Test** (*Enzyme Multiplied Immunoassay Technique*) gehört zu den homogenen Testverfahren und benötigt keine Separation von ungebundenen und Antikörper-gebundenen Enzymen, da das an das Antigen gebundene Enzym durch die Komplexbindung mit dem Antikörper seine Aktivität weitgehend verliert. Die freien Enzym-Markierten Antigene hingegen katalysieren eine Reaktion, die die Lichtabsorptionseigenschaften der Lösung verändert (z.B. $\text{NAD}^+ \Rightarrow \text{NADH}$). Die Farbänderung der Lösung wird photometrisch gemessen und ist proportional der Konzentration an Antigen in der Probe. Je mehr Antigen in der Probe vorhanden ist, desto mehr ungebundenes Enzym-Markiertes Antigen steht zur Katalyse zur Verfügung. Durch Vergleich des Messsignals mit einem "Cut-off-Kalibrator" bekannter Konzentration ist neben halbquantitativen Aussagen vor allem eine Positiv-/Negativ-Entscheidung möglich.

Bei den **ELISA-Tests** (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) hingegen handelt es sich um heterogene Assays. Hier sind im Gegensatz zum EMIT-Test alle Enzyme aktiv, gleichgültig ob sie nun an Antikörper komplexiert sind oder nicht. Dies hat zur Folge, dass die freien Enzym-markierten Antigene von den gebundenen abgetrennt werden müssen. Da die Antikörper insolubilisiert, d.h. auf einem festen Trägermaterial aufgebracht sind, lassen sich die ungebundenen Antigene der Probe und die ungebundenen Enzym-markierten Antigene einfach wegspülen.

Die Farbreaktion ist in diesem Fall umgekehrt proportional der Menge an Antigen in der Probe.

Der Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay (FPIA)

Als Markierungsreagenz beim FPIA dient eine fluoreszierende Substanz, z.B. Fluorescein. Das Reaktionsgemisch aus Antikörpern, Antigenen aus der Probe und an Fluorescein gebundenen

Antigenen wird mit polarisiertem Licht bestrahlt. Dieses Licht wird vom Fluorescein absorbiert und als Fluoreszenzlicht wieder abgegeben. Der Polarisationsgrad des Fluoreszenzlichtes ist umgekehrt proportional zur Rotationsgeschwindigkeit des fluoreszierenden Moleküls.

Ist das Molekül klein, d.h. ist das Fluorescein-markierte Antigen nicht an einen Antikörper gebunden, so rotiert das Molekül schnell; der Polarisationsgrad ist gering.

Ist das Fluorescein-markierte Antigen jedoch an einen Antikörper gebunden, so rotiert das wesentlich größere Molekül wegen seiner vermehrten Trägheit langsamer, was zu einem hohen Polarisationsgrad führt (Abb. 9).

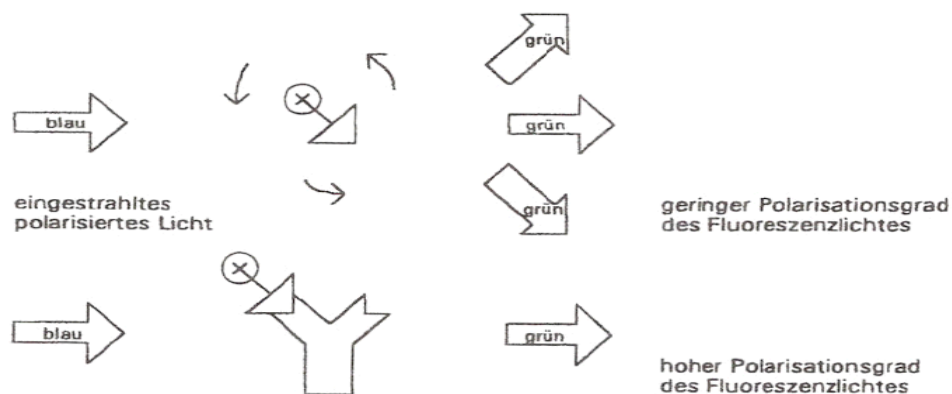


Abb. 9 Prinzip des Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassays (Blanke et al. 1990)

Da es sich auch bei diesem Verfahren um einen kompetitiven Assay handelt, konkurrieren Fluorescein-markierte Antigene mit nicht markierten Antigenen aus der Probe um die in beschränkter Zahl vorhandenen Antikörper-Bindungsstellen, und die beobachtete Fluoreszenzpolarisation liegt zwischen dem Wert für vollständig gebundenes und vollständig freies Fluorescein-markiertes Antigen. Die Fluoreszenz-Polarisation ist somit umgekehrt proportional der Konzentration des Antigens in der Probe, was messtechnische Vorteile bietet.

Die genaue Beziehung zwischen Polarisationsgrad und Konzentration des Antigens in der Probe wird bestimmt, indem die Polarisationswerte von Kalibrierungsstandards gemessen werden. Die erhaltenen Kalibrationskurven lassen sich zur quantitativen Bestimmung unbekannter Konzentrationen heranziehen.

Ist nur eine qualitative Aussage erwünscht, so wird ein Schwellenwert (Cut-off-Wert) festgelegt, bei dessen Überschreiten die Probe als positiv angezeigt wird. Je niedriger dieser Schwellenwert angesetzt wird, umso leichter kommt es durch Matrixeffekte zu "falsch-positiven" Resultaten, d.h.

zu offenbar positiven Ergebnissen, die sich nicht mit anderen, beispielsweise chromatographischen oder spektroskopischen Methoden, bestätigen lassen.

Insgesamt gesehen handelt es sich dabei um ein aufwendiges physikalisch-chemisches Messprinzip, das in technisch ausgereifter Form beispielsweise in den ABBOTT-Systemen ADx, TDxFLx, IMx und AxSYM für den Routineeinsatz in der Praxis verifiziert wurde.

Anzumerken ist allerdings, dass der auf den genannten Messplätzen einsetzbare Assay für **Ethanol** (Alkohol) nicht auf dem Prinzip des Fluoreszenz-Polarisations-Immuno-Assays (FPIA), sondern dem der "Strahlenenergieabschwächung" (REA) beruht. Auf der Basis der katalytischen Reaktionen von Alkoholdehydrogenase (ADH) und Diaphorase wird aus Ethanol ein stöchiometrisches Äquivalent eines Farbstoffes (MT-Formazan) gebildet und auf der Grundlage des *Lambert-Beerschen-Gesetzes* photometrisch erfasst.

Der Lumineszenz-Immunoassay (LIA)

Im Rahmen der **Lumineszenzmarkierung** von Immunoassays wird Licht durch chemische Vorgänge erzeugt. Die Lichtabgabe erfolgt ähnlich wie bei der Fluoreszenz und kann durch Kopplung und Reaktion von Luminogenen erfolgen, die **chemilumineszente** Systeme sind. Eine Variante besteht in der Kopplung von reduktiven bzw. oxidativen Reaktionen (mit Dehydrogenasen oder Peroxidasen) mit ATP-abhängigen Luciferin/Luciferasen von Leuchtkäfern oder NAD(P)H-abhängigen Luciferin/Luciferasen von Meeresbakterien. Diese Systeme werden als **biolumineszent** bezeichnet, da sie biologische Systeme zur Grundlage haben.

Die Vorteile des **Lumineszenz-Immunoassays (LIA)** liegen in der hohen Empfindlichkeit, die größenordnungsmäßig mit der des Radioimmunoassays vergleichbar ist, ohne dass dessen kurzzeitige Strahlungsgefahr vorliegt.

Der Ascent-Multi-Immunoassay (AMIA)

Dieser Test auf Drogen ist ein kompetitiver Immunoassay, bei dem an kolloides Gold gebundene Antigene mit Antigenen aus der Probe um Antikörper-Bindungsstellen konkurrieren. Nach einer kurzen Inkubationszeit wird die Reaktionsmischung aus der Reaktionskammer auf die Membran in der Detektionszone transferiert. Ist in der Probe Antigen vorhanden, so existieren nach dem ersten Reaktionsschritt ungebundene Gold-markierte Antigene, die sich nun an auf der Membran fixierte monoklonale Antikörper binden können, wodurch der diesem Antigen entsprechende Teil der Membran rot-violett gefärbt wird. Ein Waschschriff entfernt ungebundene Antigene und hellt den Hintergrund auf.

Der Cloned-Enzyme-Donor-Immuno-Assay (CEDIA)

Der CEDIA (Cloned-Enzyme-Donor-Immuno-Assay) ist ein homogener Enzym-Immunoassay, bei dem die rekombinante DNA-Technik verwendet wird. Grundlage des CEDIA-Tests ist das Enzym β -Galaktosidase, das gentechnologisch in zwei inaktive Fragmente gespalten wird. Nach Zugabe des ersten Fragments (Enzymdonor) zu einer Lösung mit dem zweiten Fragment (Enzymakzeptor) rekombinieren diese spontan zu einem intaktem Enzym, das im Test ein Substrat spaltet, dessen Farbänderung spektralphotometrisch gemessen wird. In der Probe konkurriert das freie Antigen mit dem an ein inaktives Fragment (Enzymdonor) gekoppeltes Antigen um den Antikörper. Der Komplex, der aus einer Enzymdonor-Antigen-Antikörper-Verbindung besteht, ist nicht mehr in der Lage, die Rekombination der inaktiven Fragmente durchzuführen. Die gebildete Menge an β -Galaktosidase korreliert mit den in der Probe vorhandenen freien Antigenen (Drogen).

Teststäbchen

Eine relativ neue Entwicklung zur Erfassung von Drogen im Urin sind Teststäbchen auf immunchemischer Basis, die ähnlich wie die seit langem bekannten Teststäbchen auf Glucose im Urin zu handhaben sind. Sie sind für verschiedene Drogenklassen erhältlich und basieren alle auf einem ähnlichen Prinzip.

Für eine Art von Teststäbchen sei die Funktionsweise im folgenden erläutert: Dabei kommt die **GLORIA**-Technologie (*Gold Labelled Optical-read Rapid Immuno Assay*) zum Einsatz. Diese Teststreifen bestehen aus einer schmalen Trägerfolie, auf die verschiedene Vlies-Zonen aufgebracht sind, die wiederum von einer Folie abgedeckt werden. Auf der Abdeckfolie befindet sich neben der Bezeichnung des zu bestimmenden Parameters eine Markierung, die anzeigt, wie tief die Stäbchen eingetaucht werden sollen; auf der Trägerfolie das Detektionsfeld sowie eine Farbmarkierung, anhand der die verschiedenen Teststreifen auf einen Blick zu unterscheiden sind. Während des Eintauchens saugt sich das unterste Vlies mit Urin voll und dient als Flüssigkeitsreservoir für den nachfolgenden chromatographischen Prozess, der entlang des Teststäbchens stattfindet. Das unmittelbar anschließende Vlies enthält Gold-markierte monoklonale Antikörper, die spezifisch für den zu bestimmenden Analyten sind.

Der in der Probe gegebenenfalls vorhandene Analyt reagiert vollständig mit den Gold-markierten monoklonalen Antikörpern und bildet mobile rot-gefärbte Komplexe. Nicht gebundene Gold-markierte monoklonale Antikörper wandern mit der Reaktionsmischung zum nächsten Vlies, wo sie von immobilisierten Analyt-Analoga abgefangen werden. Die mobilen rot-gefärbten Komplexe, bestehend aus Analyt der Probe und Gold-markierten monoklonalen Antikörpern, durchlaufen dieses Vlies und gelangen zur Detektionszone, wo sie ein positives Signal ergeben. Die Farbintensität korreliert mit der Konzentration von Analyt in der Probe. Mit Hilfe von

Vergleichsfarbfeldern können daher bei diesem Test halbquantitative Aussagen gemacht werden.

4.2 Gaschromatographie

Physikalische und chemische Grundlagen

Die Trennung von Substanzgemischen mit Hilfe chromatographischer Methoden teilt man in Adsorptions- und Verteilungschromatographie ein (Schomburg 1987, Kraus 1985, Funk 1980).

Adsorptionschromatographie

Die Anreicherung eines in Lösungsmitteln gelösten Stoffes an der Phasengrenze eines Feststoffes (Sorbens) bezeichnet man als Adsorption. Im Fall der Gaschromatographie ist das Lösungsmittel ein Gas (z.B. Helium, Stick- oder Wasserstoff). Die Kräfte die zur Adsorption führen sind van der Waals Kräfte, Dipol-Dipol-Wechselwirkungen oder π - π -Wechselwirkungen. Für eine gute Trennung der einzelnen Komponenten eines Gemisches sind eine kleine Korngröße, kleine Korngrößenstreuung, geringer Porendurchmesser und kleines Volumen bei großer spezifischer Oberfläche des Sorbens erwünscht. Man verwendet hierbei meist polare Adsorbentien wie Kieselgel oder Aluminiumoxid. Die Adsorptionschromatographie beruht auf einem vielfach wiederholten Adsorptions- und Desorptionsvorgang, den man auch als multiplikative Adsorption bezeichnet.

Verteilungschromatographie

Die Verteilungschromatographie beruht auf der multiplikativen Flüssig-flüssig-Verteilung. Die physikalische Grundlage der Trennung ist der Nernst'sche-Verteilungssatz, der besagt, dass sich eine Substanz zwischen zwei durch eine Phasengrenze getrennte Lösungen verteilt. Die Verteilung erfolgt für jede Substanz in einem charakteristischen Verhältnis, dem Verteilungskoeffizienten K:

$$K = \frac{c_l}{c_g}$$

c_l = Konzentration der Substanz in stationärer Phase (liquid)

c_g = Konzentration der Substanz in mobiler Phase (gas)

Die stationäre Phase ist bei der Gaschromatographie eine Flüssigkeit mit oder ohne Träger, die mobile Phase ein Gas.

Theorien des Trennungsvorgangs

Wegen der oft komplizierten Vorgänge der chromatographischen Trennung ist eine mathematische Beschreibung der ablaufenden Prozesse schwierig. Für Teilprozesse existieren mehrere Theorien, von denen drei im folgenden erläutert werden.

Kinetische Theorie

Eine einzelne Komponente eines Stoffgemisches wird von der mobilen Phase umso weniger mitgenommen, je stärker sie von der stationären Phase festgehalten wird. Für jede Komponente besteht während des chromatographischen Prozesses ein Konzentrationsgleichgewicht zwischen mobiler und stationärer Phase, das durch den Weitertransport der mobilen Phase gestört wird. Eine Substanz kann dabei nur wandern, solange sie sich in der mobilen Phase befindet. Es besteht also ein Zusammenhang zwischen Wanderungsgeschwindigkeit und Konzentrationsgefälle der einzelnen Komponenten eines Gemisches. Dies hat zur Folge, dass eine Komponente umso langsamer wandert, je stärker sie in der stationären Phase angereichert ist.

Daneben existieren noch die Theorie der Böden der Trennstufen sowie die Dynamische Theorie

Aufbau eines Gaschromatographen

Für die Gaschromatographie werden folgende Teile benötigt:

1. Die Trägergasversorgung mit der dazugehörigen Druckregeleinrichtung
2. Ein Einspritzsystem (Injektor) zur Probenaufgabe
3. Die Trennsäule
4. Ein Säulenofen sowie ein Heizsystem zur Temperaturregulation
5. Der Detektor

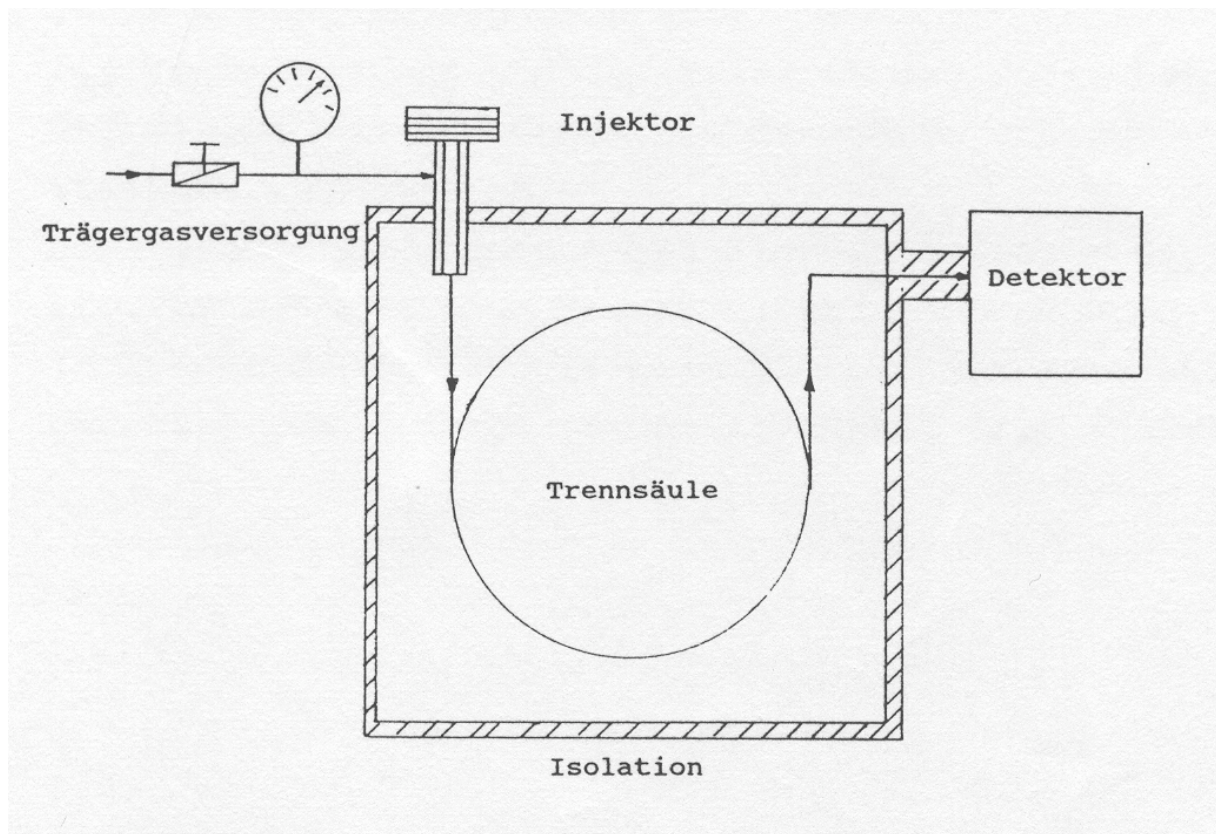


Abbildung 10:
Schematischer Aufbau eines Gaschromatographen (Schema)

Mit Hilfe der Trärgasversorgung kann über entsprechende Druck- und Strömungsregler entweder eine konstante Strömung bei konstantem Druckabfall zwischen Anfang und Ende der Trennsäule bei isothermer Arbeitsweise oder eine konstante Strömung bei entsprechend steigendem Anfangsdruck in der temperaturprogrammierten Arbeitsweise ermöglicht werden. Zudem ist bei Einbau spezieller Systeme ein Druck- oder Strömungsprogramm möglich, so dass auch lineare und nichtlineare Veränderungen der Strömung während der Trennung erreicht werden können.

Der Injektor besteht aus einem beheizten Metallblock, einem Einlass für das Trärgas und der Trennsäule sowie einer geeigneten Verdampfungskammer für die Probe. Die Proben werden über ein selbstdichtendes Septum mit Hilfe einer manuell- oder computergesteuerten Mikroliterspritze eingebracht. Feste Probensubstanzen müssen vor der Injektion in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst werden.

Nach dem Verdampfen und Vermischen der Probe mit dem Trärgas gelangt die Probe auf die Trennsäule, wo hier unterschiedliche intermolekulare Wechselwirkungen zwischen den

Komponenten des Gemisches und der stationären Phase auftreten, die für die einzelnen Komponenten unterschiedlich sind. Auf diese Weise resultieren unterschiedliche Retentionszeiten für unterschiedliche Substanzen, die umso länger sind, je größer die Affinität zur stationären Phase und umso kürzer, je geringer die Affinität zur stationären Phase ist.

Die von Trägergas durchströmte Säule befindet sich in einem Ofen, dessen Temperatur konstant gehalten oder temperaturprogrammiert betrieben werden kann. Hier findet der eigentliche Trennungsvorgang statt.

Die Trennungsleistung und Selektivität der Säule hängt dabei weitgehend von der Geometrie der Säule und der verwendeten stationären Phase ab.

Als Detektoren werden meist Flammenionisations-, Stickstoff-Phosphor- oder massenselektive Detektoren verwendet.

Im Rahmen dieser Arbeit gelangten massenselektive Detektoren zum Einsatz, die den Vorteil bieten, spezifische Substanzen, auch in geringen Konzentrationen, meist eindeutig zu identifizieren (Hübschmann 1996, Schomburg 1987).

Säulenmaterial

Die Trennsäule ist das Kernstück der Gaschromatographie. Die äußere Hülle besteht aus einem Glas oder Metallrohr. Dieses Rohr ist im Inneren mit der jeweiligen stationären Phase beschichtet. Grundsätzlich sind Säulen verschiedenen Materials, verschiedener Größe und Form einsetzbar.

Heutzutage häufig verwendete Säulen sind Fused Silica Säulen. Hierbei handelt es sich um lange, gewundene Kapillarsäulen aus amorph geschmolzenem Siliciumdioxid, die aufgrund ihres geringen Durchmessers wenig Platz benötigen und eine wesentlich bessere Trennleistung als herkömmliche Säulen erbringen (Hübschmann 1996).

4.3 Massenspektrometrie

Die Massenspektrometrie unterscheidet sich von anderen spektroskopischen Methoden grundsätzlich dadurch, dass nicht die für Übergänge zwischen verschiedenen Energieniveaus eines Moleküls notwendige Energien gemessen werden, sondern vielmehr eine Produktanalyse eines Reaktionsprozesses durchgeführt wird, der dadurch eingeleitet wird, dass man Moleküle in der Gasphase ionisiert.

Die dabei ablaufenden Reaktionen hängen nicht nur von den vorhandenen funktionellen Gruppen des zu analysierenden Moleküls sondern weitgehend auch von der Gesamtstruktur ab (Budzikiewicz 1992).

Aufbau eines Massenspektrometers

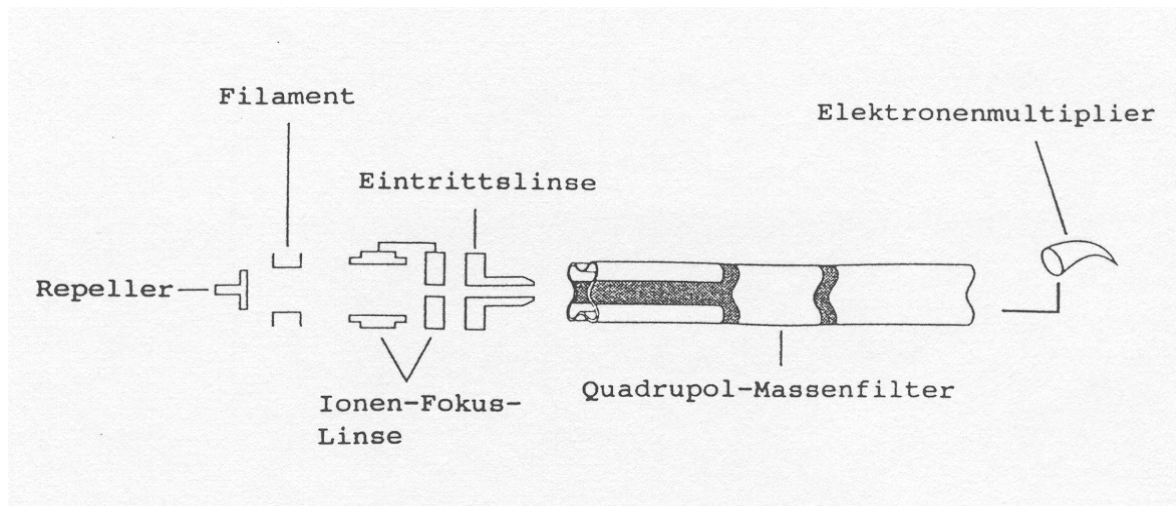


Abbildung 11:
Schematischer Aufbau eines Quadrupol-Massenspektrometers

Ein Massenspektrometer ist ein Apparat, der aus einer Substanzprobe einen Strahl gasförmiger Ionen erzeugt und diese nach ihrem Verhältnis von Masse zur Ladung trennt.

Er besteht im wesentlichen aus vier Teilen:

1. Ein Einlass zur Probeneinführung
2. Einer Ionenquelle, in der die Ionisierung erfolgt
3. Ein Analysator zur Trennung der Ionen nach ihren Massen
4. Ein Detektor zur Registrierung der getrennten Ionen

Probenzuführung

Das Problem der Probenzuführung besteht darin, eine Probe vom atmosphärischen Normaldruck, ohne Unterbrechung des Hochvakuums das in der Restapparatur herrscht, in das Massenspektrometer zu bringen. Hierzu existieren zwei Arten von Einlasssystemen: der Gaseinlass und der Direkteinlass.

Beim Gaseinlass werden gasförmige oder flüssige Proben mit einer Mikroliterspritze durch ein Septum in einen evakuierten Vorratsbehälter injiziert oder in einem Glasgefäß ausgefroren und

anschließend in das Vorratsgefäß hineinverdampft. Mit der Ionenquelle ist das Vorratsgefäß über ein Leak (Loch definierter Größe, z.B. eine gelochte Goldfolie eingeschmolzen in ein Glasrohr) verbunden.

Der Direkteinlass ist für feste oder zähflüssige Substanzen gedacht. Die Probe wird in einem Metalltiegel mit Hilfe einer heizbaren Schubstange durch eine Schleuse direkt in die Ionenquelle gebracht. Die Probe wird dann in der Ionenquelle verdampft.

Ionenerzeugung

Die beiden meistverwendeten Ionisierungsmethoden sind die Elektronenstoß-Ionisation (EI) und die chemische Ionisation (CI).

Bei der EI trifft ein im Einlass erzeugter konstanter Molekülstrahl senkrecht auf einen Elektronenstrahl. Die Potentialdifferenz zwischen Kathode und Anode ist variabel zwischen 0 und 300 V. Die Energie der Elektronen kann somit von 0 – 300 eV variieren. In der Regel liegt sie jedoch bei 70 eV, da hier die Ausbeute an Ionen unter Elektronenbeschuss erfahrungsgemäß am größten ist.

Durch die Wechselwirkung der Elektronen mit den gasförmigen Probemolekülen kann die zur Abspaltung eines Elektrons notwendige Energie aufgenommen werden, seltener können auch mehrfach positiv geladene Ionen entstehen. Daneben besteht die Möglichkeit der Ionenpaarbildung oder eine mit Dissoziation verbundene Ionisation oder - in geringem Ausmaß - auch die Bildung negativer Ionen. Die Aufnahme eines Elektrons führt zur Bildung eines Anions. Nicht ionisierte Teilchen werden durch die Hochvakuumpumpe aus der Ionenquelle entfernt.

Für eine chemische Ionisation wird die zu analysierende Substanz mit einem großen Überschuss eines Hilfsgases in die Ionenquelle eingebracht. Dabei wird das Hilfs- (Reaktand-) gas durch einen Elektronenbeschuss ionisiert. Die Ionisation der zu analysierenden Substanz erfolgt dann durch Wechselwirkung mit dem ionisierten Reaktandgas. Übliche Reaktandgase sind Methan, Isobutan und andere Kohlenwasserstoffe, Ammoniak, Wasserstoff, Wasser, Alkohole u.a.

Mit Hilfe der CI erhält man in hoher Ausbeute protonierte Molekül-Ionen. Man bekommt damit wesentliche Informationen über die Molekülmasse der zu analysierenden Substanz.

Neben diesen beschriebenen Ionisationsverfahren existieren noch eine Reihe anderer Methoden wie z.B. Oberflächenionisation, Feldionisation, Thermospray etc.

(Brudzikiewicz 1992, Hesse et al. 1984)

Massentrennung

Um ein Massenspektrum zu erhalten, müssen die gebildeten Ionen nach ihren Massen getrennt werden. Die aus der Quelle austretenden Ionen werden beschleunigt und zu einem Strahl gebündelt. Die Geschwindigkeit der Ionen hängt dabei von der Ladung, der Masse und der angelegten Beschleunigungsspannung ab.

Detektion

Zur Registrierung der getrennten Ionen existieren verschiedene Möglichkeiten. Die früher übliche Detektion, bei der die Ionen auf einer Photoplatte registriert wurden, ist inzwischen durch den Einsatz von Elektromultipliern ersetzt worden.

Im Prinzip kann der Elektromultiplier an einen bestimmten Punkt im Massenspektrometer gesetzt und die elektromagnetischen Bedingungen so geändert werden, dass die Ionen unterschiedlicher Masse den Detektor nacheinander erreichen. Eine gleichzeitige Detektion von Ionen verschiedener Massen kann aber auch durch viele Detektoren, die nebeneinander angeordnet sind, bewirkt werden (Hesse, Meier und Zeeh 1984).

Kopplung von Gaschromatograph und Massenspektrometer (GC/MS)

Die Gaschromatographie, gekoppelt mit der Massenspektrometrie, ist eine Standardmethode in der analytischen Chemie. Es lassen sich sowohl Kapillarsäulen als auch gepackte Säulen mit einem Massenspektrometer koppeln. Allerdings wird bei der Verbindung mit einer gepackten Säule ein Separator notwendig, der zur Reduktion der Trägergasmenge benötigt wird.

Bei Verwendung eines Computers zur Datenverarbeitung können von allen anfallenden chromatographischen Fraktionen mehrere Spektren erhalten werden, so dass eine schnelle Analyse komplexer Gemische durchgeführt werden kann. Allerdings können nur thermisch stabile Verbindungen identifiziert werden, es sei denn, die Folgeprodukte sind eindeutig zuzuordnen.

Zur Identifizierung einer Substanz können dann die Retentionszeit und das Massenspektrum herangezogen werden. Bei einer bekannten Substanz ist es möglich, das Massenspektrometer auf eine bestimmte Masse einzustellen. Man erhält dadurch eine spezifische, hochempfindliche Detektion (SIM = single ion monitoring)

Ausgabe der Messdaten

Der Totalionenstrom (TIC)

Der Analysator trennt die eintreffenden Ionen nach ihrem Verhältnis Masse zu Ladung (m/z) auf und der Detektor registriert die Ionen. Die Detektion erfolgt heutzutage mit Elektromultipliern. Die Summe aller auf den Multiplier eintreffenden Ionen können als Totalionenstrom bezeichnet werden. Er wird in willkürlichen Einheiten, der Abundance, angegeben und durch Addition der Intensitäten der einzelnen Ionen für jeden Massendurchlauf bestimmt (Hübschmann 1996, Budzikiewicz 1992).

Full Scan und SIM (Selected Ion Monitoring)

Bei der Massenspektrometrie können unterschiedliche Messtechniken angewendet werden. Eine Möglichkeit ist die Detektion vollständiger Spektren (Full Scan). Dabei wird in einem vorgegebenen Massenbereich für jede Masse die Ionenintensität aufgezeichnet und gegen das m/z -Verhältnis der Ionen aufgetragen. Hierbei ergibt sich das jeweilige Chromatogramm. Die Identifikation der erhaltenen Substanzen erfolgt durch Vergleich der gefundenen Massenspektren mit einer Referenzbibliothek unter Berücksichtigung der Retentionszeit und dem Retentionsindex der gesuchten Substanz.

Will man lediglich auf eine bestimmte Substanz prüfen, deren Massenspektrum bereits bekannt ist, bietet sich die Detektion mit dem Selected Ion Monitoring (SIM) an. Voraussetzung ist allerdings, dass neben dem Massenspektrum der zu analysierenden Substanz, die Ionenintensitäten und die Retentionszeiten bekannt sind. Der Ionenstrom wird bei diesem Detektionsmodus nur nach bestimmten charakteristischen Massen durchsucht. Dadurch, dass die gesamte Messzeit nun zum Aufzeichnen weniger Massen zur Verfügung steht, wird die Nachweisempfindlichkeit deutlich erhöht (Hübschmann 1996, Budzikiewicz 1992).

Massenspektren

Die Auflistung der einzelnen Ionenmassen gegen ihre jeweilige Intensität wird als Massenspektrum bezeichnet. Das intensivste Ion nennt man Basision oder Basispeak; häufig werden alle Ionenintensitäten auf die des Basispeaks bezogen. Die Darstellung kann in Form einer Graphik (Spektrum) oder einer Tabelle (Listing) erfolgen.

5. Probenvorbereitung (Präanalytik)

Flüssig-flüssig-Extraktion

Unter einer Flüssig-flüssig-Extraktion versteht man die möglichst selektive Überführung einer Substanz aus einer flüssigen Phase in eine andere. Die physikalisch-chemische Grundlage ist auch hierbei der Nernst'sche Verteilungssatz. Da der Stoffaustausch nur an der Phasengrenze möglich ist, muss diese möglichst groß sein. Bei der Flüssig-flüssig-Extraktion wird diese durch Mischung in einem Schütteltrichter oder mit Hilfe einer großen benetzten Oberfläche erreicht (z.B. Extrelut®-Extraktion).

Extrelut®-Säulen-Extraktion

Das Extrelut®-Verfahren dient zur Extraktion lipophiler Substanzen aus wässrigen Lösungen. Es beruht auf dem Prinzip der Flüssig-flüssig-Extraktion. Der Stoffaustausch findet hier an der Oberfläche eines weitporigen Kieselgels statt, das sich bei der Applikation der wässrigen Probenlösung mit dieser vollsaugt und so als inertes Trägermaterial mit großer Oberfläche dient. Die anschließende Extraktion erfolgt mit einem organischen Lösungsmittel, das mit dem wässrigen Kieselgel in Wechselwirkung tritt.

Festphasenextraktion (solid phase extraction / SPE)

Im Gegensatz zur Flüssig-flüssig-Extraktion findet bei der Festphasenextraktion eine möglichst selektive Adsorption des oder der Analyten an eine feste, sehr große Oberfläche statt. Das Sorbensmaterial kann auf den jeweiligen Analyten abgestimmt werden. Es sind unpolare, polare sowie Ionenaustausch- und Mischphasen erhältlich, die zum größten Teil aus entsprechend derivatisierten Kieselgelen hergestellt werden. Die Handhabung des Verfahrens gleicht dem einer Säulenchromatographie, jedoch liegt hier als physikalisch-chemisches Prinzip die Adsorptionschromatographie zugrunde (siehe Abschnitt 7.1.1).

Derivatisierung

Mit Hilfe von Derivatisierungsreagentien werden polare Gruppen eines Analyten in unpolare umgewandelt. Unpolare Verbindungen besitzen dabei häufig einen wesentlich niedrigeren Siedepunkt. Dies wirkt sich bei der gaschromatographischen Analyse insofern vorteilhaft aus, als die Gefahr einer thermischen Zersetzung des Analyten geringer ist. Zudem kann die Säulentemperatur erniedrigt werden, wodurch das Säulenbluten verringert wird. Die Abnahme der

Polarität verbessert die Peakform und vermindert ein Peaktailing, was sich günstig auf die Trennschärfe auswirkt (Schomburg 1987).

Ferner ist eine Derivatisierung mit einer Erhöhung der Molekülmassen verbunden. Dies ist bei der Analyse von Substanzen aus komplexen Gemischen bei der GC/MS-Analyse von Vorteil, da man in Massenbereiche gelangt, die außerhalb denen der Matrixmoleküle liegen. Man erreicht so eine spezifischere Detektion.

B. Experimenteller Teil

6. Material und Methoden

6.1 Herkunft des Untersuchungsmaterials

Das Untersuchungsmaterial (Urin) wurde im Rahmen der allgemeinen Drogenüberwachung in einer großen psychiatrischen Klinik gewonnen. Hierbei handelte es sich um Spontanurin, der ohne besondere Zusätze direkt dem unten näher beschriebenen immunochemischen Screeningtest unterzogen wurde.

6.2 Screening mit immunochemischen Testverfahren (Immunoassays)

6.2.1 Chemikalien und Geräte

Chemikalien und Geräte

Name und Typ des Gerätes: Olympus AU 400



Hersteller und Adresse:

Olympus Deutschland GmbH
Wendenstr. 14 – 18
20097 Hamburg
0040756

Seriennummer:

Standort: **Klinisches Labor, Diakonie-Krankenhaus
„Harz“, Elbingerode**

ELB – KC - 102

Baujahr: 2000

Anlieferungszustand: 30.10.2000, neu

Funktion des Gerätes: Klinisch – chemische Analysen aus
Serum und Urin, Drogenanalytik

Methode:

Halb - quantitativer homogener Enzym – Immunoassay für klinisch –chemische Analyser
(CEDIA – Test)

Testprinzip:

Grundlage des CEDIA-Tests ist das Enzym B-Galaktosidase, das gentechnologisch in zwei inaktive Fragmente gespalten wird. Nach Zugabe des ersten Fragments (Enzymakzeptor) rekombinieren diese spontan zu einem aktiven Enzym, das im Test ein Substrat spaltet, dessen Farbänderung photometrisch gemessen wird.

In der Probe konkurriert das freie Antigen mit dem an ein inaktives Fragment (Enzymdonor) gekoppeltes Antigen um den Antikörper. Der Komplex, der aus einer Enzymdonor-Antigen-Antikörper-Verbindung besteht, ist nicht mehr in der Lage, die Rekombination der inaktiven Fragmente durchzuführen.

Die gebildete Menge an β -Galaktosidase korreliert mit den in der Probe vorhandenen freien Antigenen (Drogen) und wird als Extinktion gemessen.

Referenzbereich:

| | |
|----------------|-----------|
| Amphetamine | 750 ng/ml |
| Benzodiazepine | 100 ng/ml |
| Cannabinoide | 25 ng/ml |
| Kokain | 100 ng/ml |
| Opiate | 100 ng/ml |

Messbereich / Einheiten:

| | | |
|----------------|----------|-------|
| Amphetamine | bis 3000 | ng/ml |
| Benzodiazepine | bis 2000 | ng/ml |
| Opiate | bis 2000 | ng/ml |
| Kokain | bis 2000 | ng/ml |
| Cannabis | bis 100 | ng/ml |

Untersuchungsmaterialien:

Urin / Serum

Präanalytik (extern):

Alle Harnproben wurden unter Aufsicht gewonnen. Bei jeder Probe lag ein Anforderungsschein mit den persönlichen Daten des Patienten, gewünschter Untersuchung, aktueller Medikation inkl. Tagesdosis und weiteren besonderen Hinweisen.

Eventuelle Einflussgrößen und Störfaktoren:

Verdünnung der Proben, Zusatz von Säure, Hypochlorit, Flüssigseife, Kochsalz, Medikamenten, Verzehr von Mohn, Halbwertszeit

Reagenzien, Verbrauchsmaterialien und Kontrollen:

Standardreagenzien der Herstellerfirma. Alle Verpackungseinheiten, Bestellnummern, Hersteller wurden sorgfältig kontrolliert.

Kontrollen:

Olympus spezial Kontrolle low und high.

Verbrauchsmaterial

Eppendorfreaktionsgefäße ohne Deckel 1,5ml

Olympus Probenröhrchen 4ml (50x14mm)

Kalibration:

| | |
|----------------|--|
| Amphetamine | Vierpunktkalibration alle 14 Tage, bei Reagenzwechsel und bei Bedarf |
| Benzodiazepine | Fünfpunktkalibration alle 14 Tage, bei Reagenzwechsel und bei Bedarf |
| Cannabinoide | Fünfpunktkalibration alle 14 Tage, bei Reagenzwechsel und bei Bedarf |
| Kokain | Fünfpunktkalibration alle 14 Tage, bei Reagenzwechsel und bei Bedarf |
| Opiate | Fünfpunktkalibration alle 14 Tage, bei Reagenzwechsel und bei Bedarf |

Arbeitsablauf:**Präanalytik (intern):**

Vor der Analyse wurde die externe Präanalytik überprüft ((Anforderungsschein, angegebene Medikamente, Material).

Dann erfolgte eine Kreatininbestimmung im Urin, weiterhin: pH-Messung des Urins, Urine mit starker Trübung wurden zentrifugiert und der Überstand für die Analyse eingesetzt, das evtl. Sediment wird mikroskopisch beurteilt, bei visuell sichtbarer Verdünnung des Urins wurde das spez. Gewicht bestimmt.

Durchführung

Nach Eingabe der Anforderungen in die EDV (bei Drogentesten wird automatisch das Kreatinin mitbestimmt) wurden die Probenracks mit barcodierten Sekundärröhrchen bestückt, ins Gerät gestellt und gestartet.

Nach Proben wurden in folgenden Schritten analysiert:

- Spülen der Reagenz- und Probennadel
- Ansaugen der Probe
- Pipettieren der Probe in die Küvette - Küvettenring dreht sich, um Reagenz zu pipettieren.
- Reagenzteller dreht zum jeweiligen Reagenz, wird angesaugt und in die Küvette pipettiert.
- Automatisches Mischen der Probe und Reagenz R 1
- Inkubation – Küvettenring dreht sich in der Inkubationszeit weiter und erreicht das Photometer.
- Der gleiche Vorgang wiederholt sich, um R 2 zu pipettieren.
- Photometer misst während der bestimmten Reaktionszeit mehrere Extinktionen.
- Die Extinktionen werden vom Olympus AU 400 berechnet und die Konzentrationen als Messergebnisse angegeben.
- Danach werden die Küvetten mehrmals gespült und getrocknet und sind für weitere Messungen bereit.
- On-line-Übertragung der Messwerte in die Labor-EDV.
- Messergebnisse werden im Menü-Punkt „Ergebnisanzeige“ überprüft (Flags erkennen).
- Nötige Wiederholungsmessungen starten (evtl. verdünnen).
- Freigabe der Werte in die Labor-EDV nach plausiblen Ergebnissen

Probenlagerung nach der Analytik

Alle Proben werden noch 24 Stunden nach Routine bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Positive Proben werden nach der Befundfreigabe bis zur Klärung des Ergebnisses eingefroren (bei -18°C), später erfolgte in ausgewählten Fällen die Bestätigungsanalyse.

Qualitätskontrolle

Interne Qualitätskontrolle

Vor Routinestart wurden zwei Kontrollen unter und über dem Cut off gemessen.

Externe Qualitätskontrolle

Ein Ringversuch im Jahr (INSTAND)

Kriterien für die analytische Freigabe der Ergebnisse

Folgende Kriterien müssen erfüllt sein:

Kalibration und Kontrollen im akzeptablen Bereich.

Präanalytik extern /intern.

Technische und medizinische Validation.

Plausible Verlaufskontrollen, evtl. Rücksprache mit dem anfordernden Arzt

Auswertung und Dokumentation

Online Übertragung in die EDV. Kummulativbefund mit Quotienten Droge/Kreatinin.

Werte die über dem höchsten Kalibrator liegen, werden manuell als Wert über dem höchsten Kalibrator eingegeben.

Werte die unter dem niedrigsten Kalibrator liegen, werden manuell als negativ eingegeben. Die gefundenen Extinktionen vom Automaten werden auf dem Anforderungsschein dokumentiert, die Werte als Verlaufskurven in den PC (Büro) eingegeben, die Anforderungsscheine für 2 Jahre aufbewahrt.

6.3 Bestätigungsanalytik mit der Gaschromatographie / Massenspektrometrie (GC/MS)

(akkreditiertes Verfahren des Instituts für Rechtsmedizin der Universität Gießen)

6.3.1 Chemikalien und Geräte

Referenzsubstanzen

Morphin (1 mg/ml RM 003 Promochem)

Codein (1 mg/ml RC 006 Promochem)

MAM (1 mg/ml RA 003 Promochem)

Kokain (1 mg/ml RC 008 Promochem)

Benzoylcegonin (1 mg/ml RB 004 Promochem)

Methylecgonin (100 µg/ml E 00 Radian)

Cocethylen (1 mg/ml C 010 Radian)

Delta-9-Tetrahydrocannabinol (THC) (1 mg/ml T 005 Radian)

11-Nor-9-Carboxy-Delta-9-THC (THCCOOH) (100 µg/ml T 006 Radian)

11-Hydroxy-Delta-9-THC (11-OH-THC) (100 µg/ml H 026 Radian)

Amphetamin (1 mg/ml R 007 Promochem)

Methamphetamin (1 mg/ml RM 009 Promochem)

3,4-Methylendioxyamphetamin (MDA) (1 mg/ml RM 012 Promochem)
 3,4-Methylendioxymethamphetamin (MDMA) (1 mg/ml RM 013 Promochem)
 3,4-Methylendioxyethylamphetaminhydrochlorid (MDEA)
 (1 mg/ml RM 065 Promochem)
 N-Methyl-1-(3,4-methylendioxyphenyl)-2-butanamin (MBDB)
 (1 mg/ml M 102 Promochem)
 Morphin-D3 (100 µg/ml RM 006 Promochem)
 Codein-D3 (100 µg/ml RC 007 Promochem)
 MAM-D3 (100 µg/ml RA 006 Promochem)
 Kokain-D3 (100 µg/ml RC 004 Promochem)
 Benzoylecgonin-D3 (100 µg/ml RB 001 Promochem)
 11-Nor-9-Carboxy-Delta-9-THC-D3 (THCCOOH-D3) (100 µg/ml T 004 Radian)
 Delta-9-Tetrahydrocannabinol-D3 (THC-D3) (100 µg/ml T 003 Radian)
 11-Hydroxy-Delta-9-THC-D3 (11-OH-THC-D3) (100 µg/ml H 041 Radian)
 Amphetamin-D5 (1 mg/ml R 005 Promochem)
 Methamphetamin-D5 (1 mg/ml RM 004 Promochem)
 3,4-Methylendioxyamphetamin-D5 (MDA-D5) (100 µg/ml RM 011 Promochem)
 3,4-Methylendioxymethamphetamin-D5 (MDMA-D5) (100 µg/ml RM 011 Promochem)
 3,4-Methylendioxyethylamphetaminhydrochlorid-hydrochlorid-D5 (MDEA-D5)
 (100 µg/ml RM 067 Promochem)
 1,2-Dideutero-N-trideuteromethyl-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-butanamine
 (MBDB-D5) (1 mg/ml M 104 Radian)

Lösungsmittel und Reagenzien

Leerserum (Medidrug Basis-line S), Art.: 40151
 Methanol (Riedel-de-Haen), Art.:32213
 Ethylacetat (Merk) , Art.:00868.1000
 n-Hexan (Merk) , Art.:4371.1000
 Tetrabutylammoniumhydroxid (Merk) , Art.: 818840
 Dimethylsulfoxid (Merk) , Art.:1.09678.0100
 Methyljodid (Fluka) , Art.: 67690
 Pentafluoropropionsäureanhydrid (Aldrich) , Art.: 25.2387
 2,2,3,3,3-Pentafluoro-1-propanol (Aldrich) , Art.: 25.7478
 iso-Octan (Merk) , Art.: 1.04727

HCl (0,1 mol/L)

Aqua bidest./Methanol (95/5)

Trismethoxymethanamin

Triton X-100

20mM Trismethoxymethanamin in Aqua dest. mit 0,01- 0,05 Gew% Triton

X-100 TBAH(3.2.5)-DMSO(3.2.6)-Lösung (5/95) immer frisch herstellen

Geräte

Zentrifuge

Heraeus Sepatech Omnifuge 2.0 RS

Vibrationsmischer

Für Einzelproben: IKA KS1

Für Mehrfachproben: IKA KS125 basic

pH-Meter

Pipettierroboter:

Gilson Aspec XL Solid Phase Extraction mit

Spritzenpumpe: Gilson 402 syring pump

Software: Xtray 3.0

Extraktionssäulen: Solid Phase Extraktionssäule SPE Columns 101, 200 mg, 3 ml,
Fa IST (Best.-Nr.: 101-0020-B)

GC/MS

Gaschromatograph: HP 6890

Massenspektrometer: HP 5973

Software: HP ChemStation G1701BA Version B.01.00

Hardware: HP Kayak XA

Säule: HP-5MS 5 % PhenylMethylsiloxane, 30m*250 µm*0.25 µm
nominal (HP 19091S-433)

Trärgas: Helium 5.0

Parameter**Gaschromatographische Bedingungen**

| | |
|---------------------|----------------------------|
| Gas: | Helium 5.0 |
| Mode: | constant flow |
| Flow: | 1 ml/min |
| Injection Volume: | 1 µl (Splitless Injection) |
| Purge on: | 1.5 min |
| Injektortemperatur: | 250 °C |
| Transfer Line: | 280 °C |
| Injektortemperatur: | 250 °C |
| Detektortemperatur: | 280 °C |

Temperaturprogramm

| | |
|----------------------|-----------|
| Initial Temperature: | 70 °C |
| Initial Time: | 2 min |
| Rate: | 20 °C/min |
| Final Temperature: | 250 °C |
| Final Time: | 5 min |
| Rate: | 20 °C/min |
| Final Temperature: | 300 °C |
| Final Time: | 8 min |

MS-Bedingungen

| | |
|-------------------------|----------------------|
| Ionisierung : | EI (70 eV) |
| Temperatur Ionenquelle: | 230, MS Quad. 150 °C |
| Acquisition: | SIM |
| Dwell per Ion: | 50 msec |
| Solvent Delay: | 5 min |

Parameter der Datenanalyse

| | |
|--------------------------------|---------------------------|
| Integrator: | RTE Integrator |
| Qualifier Percent Uncertainty: | 20 % of Relative Response |
| Curve Fit: | Linear |

7. Ergebnisse und Diskussion

Allgemeine wichtige Vorbemerkung für alle Drogentests: Gefahr von Manipulations- und Verfälschungsmöglichkeiten

Im Hinblick auf die teilweise beträchtlichen Konsequenzen des Drogennachweises für den Betroffenen treten regelmäßig Manipulationen auf. Meist geht es darum, Drogenfreiheit vorzutäuschen. Es sind aber auch schon Fälle bekannt geworden, wo beispielsweise durch Auflösen von Tabletten in Leiharn versucht wurde, eine angeblich massive „Drogenbeeinflussung“ zu simulieren, um damit in den „Genuss“ der verminderten Schuldfähigkeit oder Schuldunfähigkeit zu kommen. Die Gefahr von Manipulationen besteht hauptsächlich dann, wenn sich ein Proband auf einen bestimmten Untersuchungstermin einstellen kann. Daher werden in vielen Untersuchungsstellen Kontrolltermine nach dem Zufallsprinzip festgelegt. Im rechtsmedizinischen Bereich ist die Gefahr von Manipulationen wesentlich geringer, wenn die Probengewinnung unvorhersehbar ist, beispielsweise nach einem Verkehrsunfall.

Grundsätzlich muss zwischen **2 Manipulationsmöglichkeiten** unterschieden werden:

1. Die eigene Urinprobe wird mit z.B. mit Wasser, Tee, drogenfreiem Urin oder anderen geeignet erscheinenden Flüssigkeiten verdünnt, um die Nachweisgrenze zu unterschreiten, oder es wird ein drogenfreier Fremdharn abgegeben.
2. Es wird versucht, die eigene Harnprobe durch den **Zusatz oder die Einnahme bestimmter Mittel** so zu verändern, dass ein falsch-negative Screeningergebnis resultiert.

Man sollte daher generell dazu übergehen, Harnproben nur unter Aufsicht zu asservieren.

Außerdem sollten sich in dem Asservierungsraum kein Wasser und keine Toilettenreiniger, Handwaschmittel, Desinfektionslösungen oder ähnliches befinden, da solche Dinge häufig zur Verfälschung benutzt werden.

Die spezielle Literatur zum Thema „Manipulation und Verfälschung“ befindet sich im Anhang hinter dem allgemeinen Literaturverzeichnis.

Allgemeine Erläuterungen zu den Abbildungen

Auf der **Abszisse** ist die Zeitskala, auf der **linken Ordinate** sind die „readings“ des betreffenden Tests in ng Äqu./mL ($\text{---}\bullet\text{---}$) und auf der **rechten Ordinate** ist der Kreatininquotient als Quotient der „readings“ in ng Äqu./mL und der Kreatininkonzentration in ng/ μmol ($\text{---}\blacktriangle\text{---}$) dargestellt. Die schraffierte Fläche bezeichnet den Bereich des cut-off. Der Übergang zum nicht schraffierten Bereich stellt den **cut-off Wert** dar.

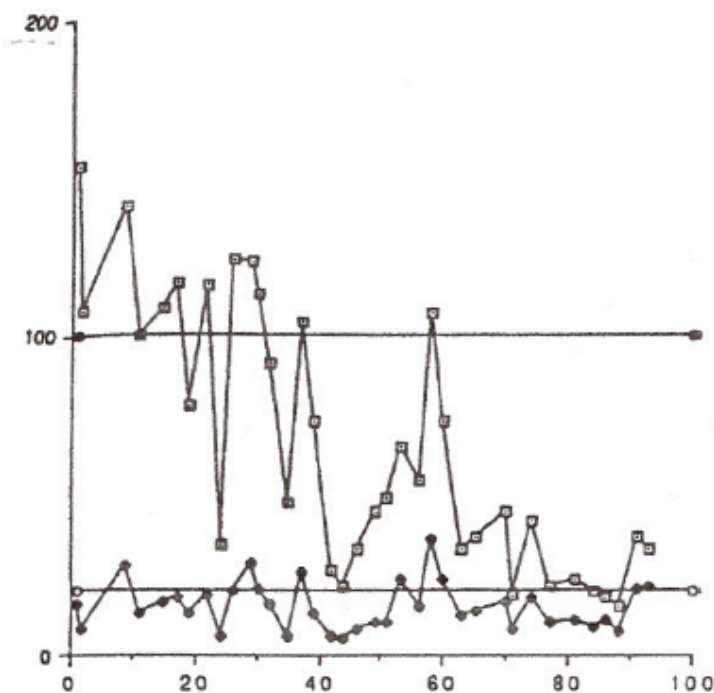
7.1 Immunchemisches Screening (Immunoassays)

7.1.1 Vor- und Nachteile der Kreatininkorrektur

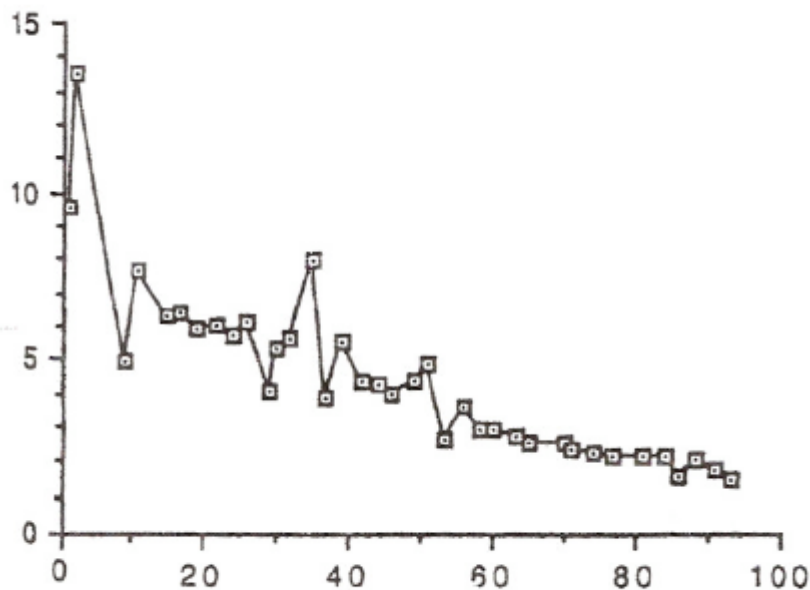
Auf die Möglichkeit der **Kreatininkorrektur** wurde bereits hingewiesen. Diese bietet in den meisten Fällen Vorteile, sie kann jedoch auch beim Vorliegen besonderer Umstände irreführende Ergebnisse liefern.

Das **Prinzip** und die **generellen Vorteile der Kreatininkorrektur** sind in **Fall 1**. dargestellt.

Fall 1a



Fall 1a: Getrennte Darstellung der Ausscheidung von Cannabinoiden (THC) - oberes Diagramm - und Kreatinin - unteres Diagramm - nach Absetzen eines chronischen Cannabinoidenkonsums.

Fall 1b

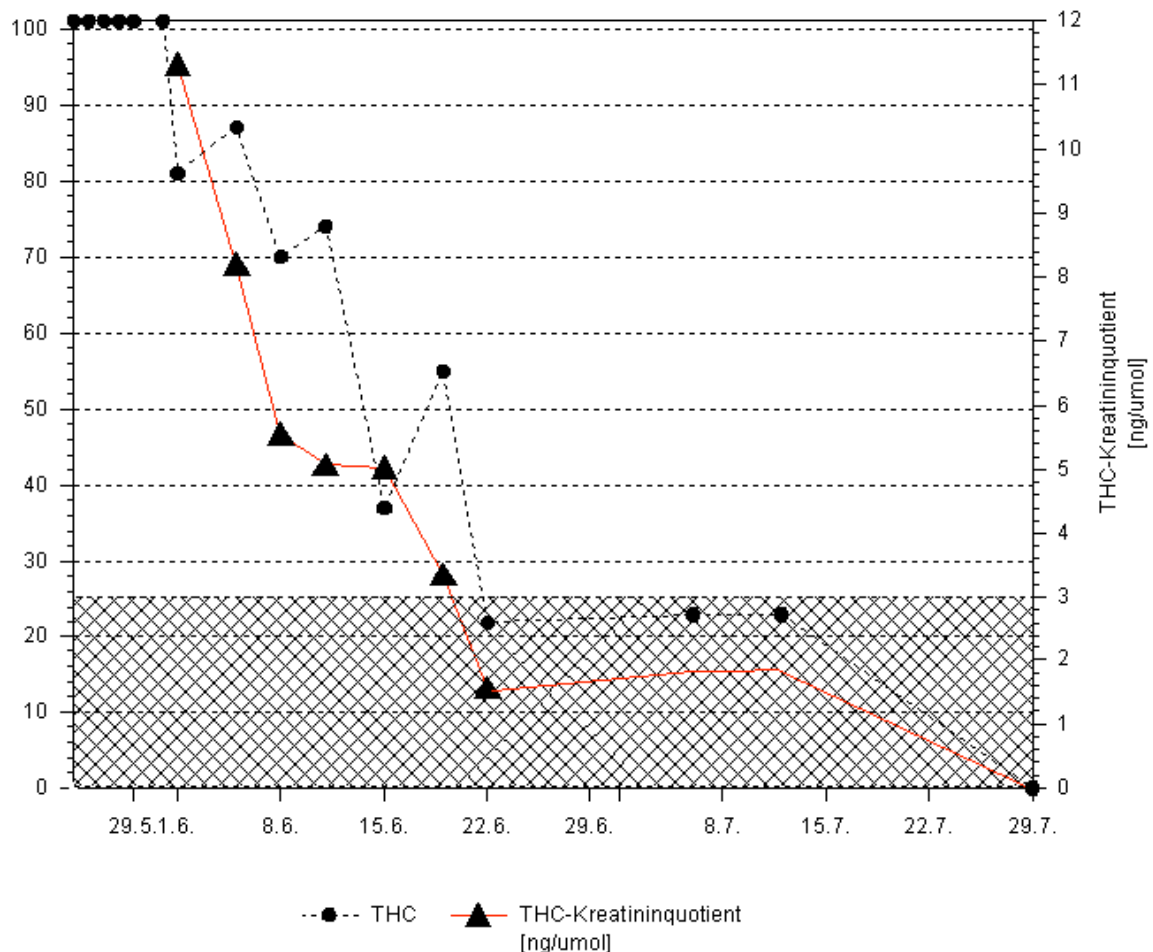
Fall 1b: Darstellung des Quotienten von Cannabinoiden und Kreatinin nach Absetzen eines chronischen Cannabinoidkonsums.

Es ist deutlich zu erkennen, dass die Kreatininkorrektur eine wesentlich eindeutiger Aussage gestattet. Während die unkorrigierte Darstellung der Cannabinoidkurve einen wiederholten Rückfall nicht ausschließen würde, verläuft die Kurve nach Kreatininkorrektur wesentlich geglätteter und würde eigentlich nur am Tag 37 für eine erneute Aufnahme sprechen, die aber ohne den Nachweis von THC im Blut im forensischen Sinn nicht beweissicher wäre.

Die **Vor- und Nachteile der Kreatininkorrektur** sollen nachfolgend noch an zwei praktischen Fallbeispielen veranschaulicht werden.

7.1.1.1 Vorteile der Kreatininkorrektur

Fall 2



Fallbeschreibung (Fall 2):

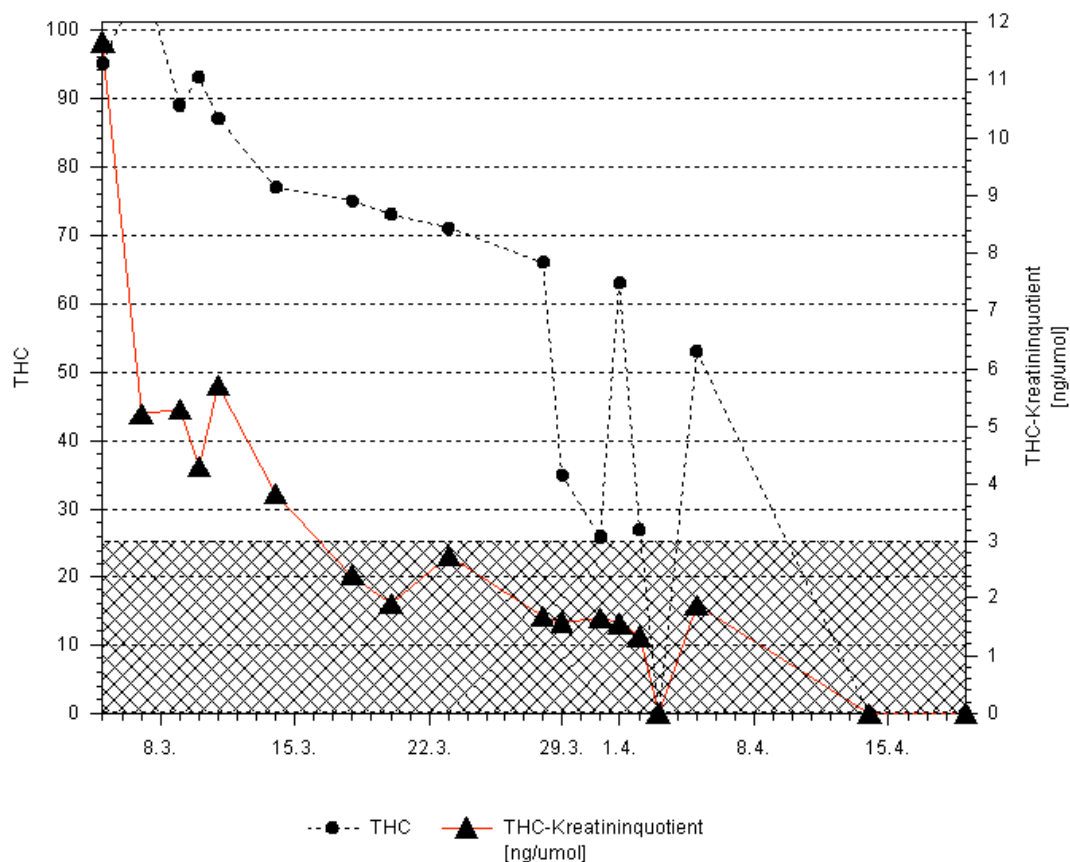
24-jähriger Patient in gutem AZ und EZ, seit ca. 4 Jahren regelmäßiger Drogenkonsum, ca. 2 g/die Cannabis geraucht und ca. 2 g Kokain im Monat gesneeft. Gelegentlich habe er auch Ecstasy, LSD und Valeron konsumiert. Die letzte Drogeneinnahme sei am Aufnahmetag (28.5.) gewesen: ¼ g Cannabis. Entgiftung unter Catapresan 300 mg, Tegretal 600 ret./die, Chlorprothixen in mg initial 15-15-15-30/die, Aponal in mg 125mg. Desweiteren wurde die ambulant angesetzte medikamentöse Therapie mit Ferro Sanol 1 Tbl./die und Aeries 5 mg 1 Tbl./die fortgeführt. Am 23. Behandlungstag (19.6) Anstieg des THC-Wertes auf 55 ng Äqu./ml.

Würde man in diesem Fall nur die THC-Konzentration im Urin bewerten, so könnte der Verdacht entstehen, dass der Patient erneut THC konsumiert hat. Zieht man allerdings die Urinkreatininkonzentration mit heran und bildet aus beiden den Quotienten, so ist ersichtlich, dass die Konzentration der THC weitgehend kontinuierlich abfällt. Dem Patienten kann damit nicht

unterstellt werden, erneut Cannabis konsumiert zu haben. Der Urinkreatininwert ist neben der THC-Konzentration ebenfalls angestiegen, folglich ist der Quotient niedriger.

Auch im nächsten Beispiel bringt die Kreatininkorrektur insbesondere im Beurteilungszeitraum vom 29.03. bis 03.04. eine weitestgehende Klärung.

Fall 3



Fallbeschreibung (Fall 3):

33-jähriger Patient in gutem Allgemein-, Kräfte- und Ernährungszustand mit bekannter Polytoxikomanie seit dem 18. LJ. Zunächst Cannabiskonsum, ab 1996 habe er Kokain und Heroin gleichzeitig genommen, zuletzt vor seiner Inhaftierung im Sommer 2001 täglich 2 - 4 g Heroin i. v. und 2-3 g Kokain geraucht und auch Crack genommen; in der Haft (2001 - 2002) habe er etwa 4 x pro Woche ca. 2 g Haschisch geraucht, zuletzt am 20.02.2002. Der Patient hatte nach Haftentlassung aus der JVA auf Bewährung, mit der Auflage sofort sich in eine Drogenentwöhnung zu begeben, am 19.02.2002 im Krankenhaus Neinstedt in der Zeit vom 19.02.02 bis 05.03.02 entgiftet und kam von dort zur Aufnahme zur Entwöhnungstherapie am 05.03.02. Chronische Hepatitis C-Infektion bekannt.

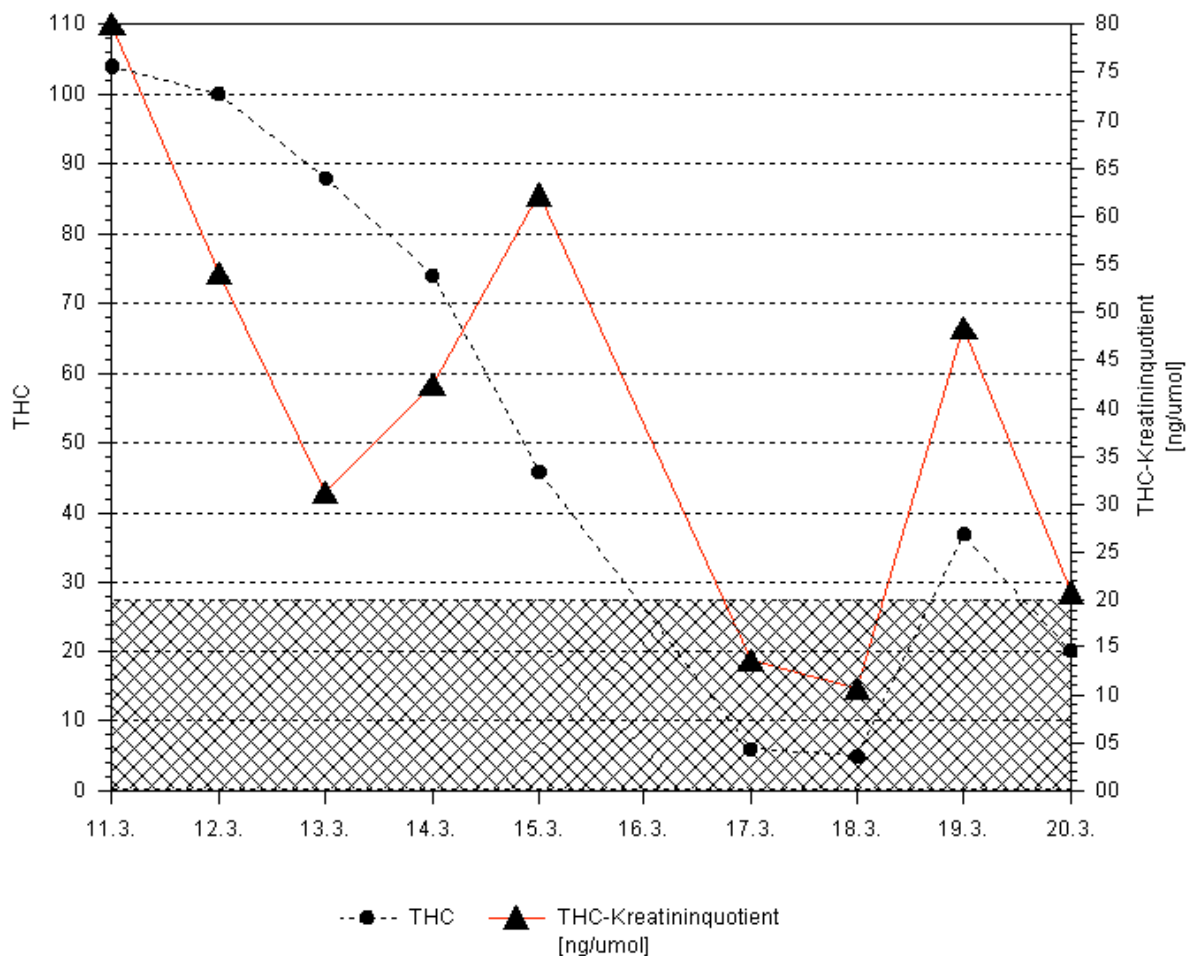
Würde man auch in diesem Fall nur die THC-Konzentration im Urin bewerten, so könnte der Verdacht entstehen, dass der Patient erneut THC konsumiert hat (sogar zwei Mal!). Beim

Betrachten des THC-Kreatininquotientes wird aber deutlich, dass die THC-Konzentration abfällt bzw. unter dem Cut-off liegt. Damit kann ein erneuter THC-Konsum des Patienten ausgeschlossen werden. Bei Berücksichtigung der Vorgeschichte des Patienten wird auch deutlich, zu welchen rechtlichen Folgen die falsche Interpretation der THC-Konzentration ohne Berücksichtigung des Urinkreatininwertes führen könnte.

7.1.1.2 Nachteile der Kreatininkorrektur

Im nächsten Fall bietet sich eine andere Erklärungsmöglichkeit für den Anstieg des Kreatininquotienten an, deren Grundlage, nämlich die **Rückresorption der lipophilen Cannabinoide aus fettreichen Kompartimenten**, die häufig nicht in Betracht gezogen wird.

Fall 4



Fallbeschreibung (Fall 4):

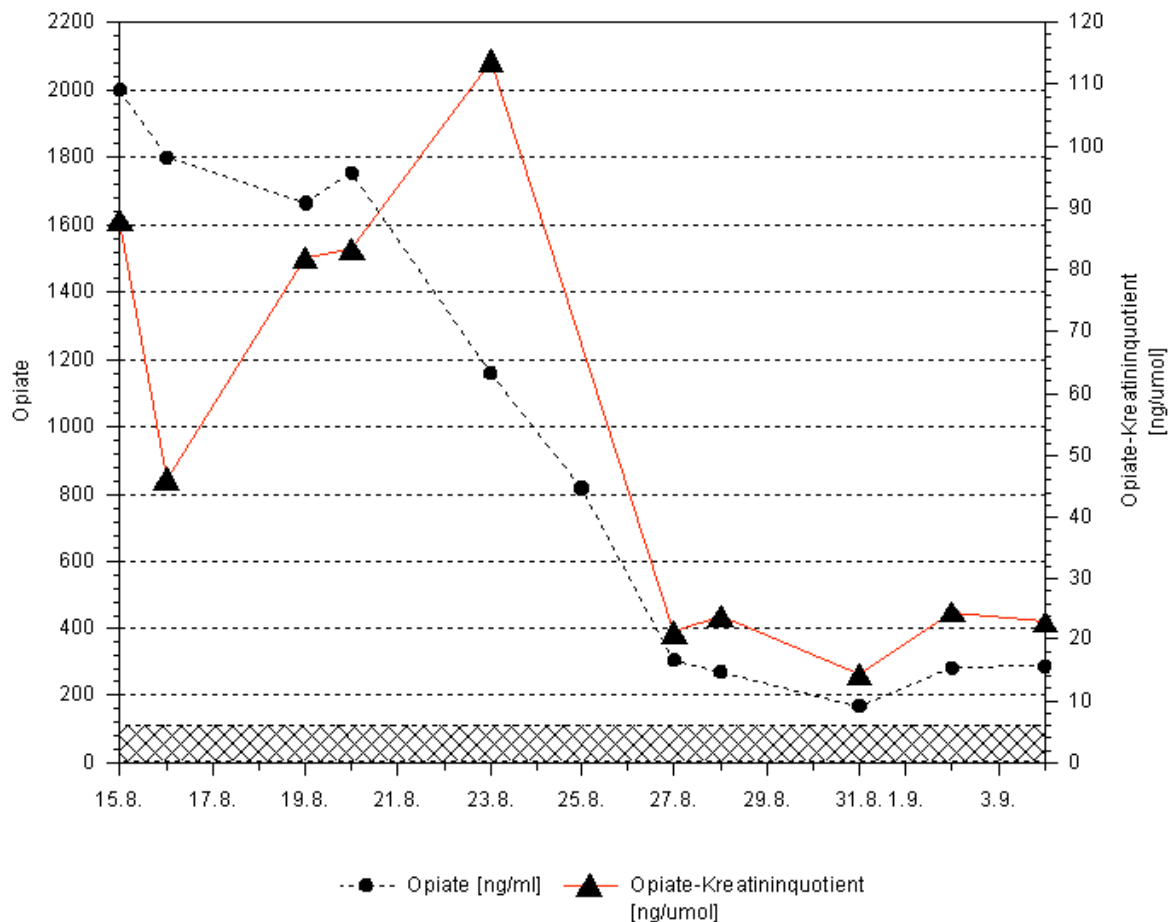
21jährige schlanke, untergewichtige Patientin in reduziertem AZ und KZ.

Im 15. LJ. erstmals im Freundeskreis Cannabis konsumiert. Daraufhin zunächst lediglich sporadischer Cannabis-Konsum. Seit dem 16. Lebensjahr regelmäßiger Konsum von Cannabis und phasenweise auch Konsum von LSD, Ecstasy, Crystal, Kokain und psychoaktiven Pilzen. Erster Heroin-Konsum vor ½ Jahr. Sie habe das Heroin zunächst über einen Zeitraum von etwa 1 Monat nur geraucht und sei dann dazu übergegangen, sich das Heroin zu injizieren. Zuletzt täglich 5 g Heroin, verteilt auf mehrere Tagesdosen. Täglich konsumiere sie 0,5 bis 1g Cannabis. Letzte Drogeneinnahme sei jedoch am Vortag der Aufnahme gewesen. Bislang keine stationären Entgiftungs- oder Entwöhnungsbehandlungen. Keine schweren Vorerkrankungen.

Medikation: Tiapridex, Timonil, Catapressan, Aponal, Tegretal und Subutex.

In diesem Fall erkennt man, dass der **Kreatininquotient auch irreführend** sein kann. Durch starke Schwankungen des Urinkreatininwertes kommt es zum Anstieg des Quotienten, obwohl die Cannabinoidkonzentration kontinuierlich weiter abfällt (Zeitraum 13.3-17.3). Im weiteren Verlauf tritt jedoch ein kurzfristiger Anstieg der beiden Werte (19.3) auf. Diesen Anstieg kann man jedoch mit der Freigabe der Cannabinoide aus den schwächer durchbluteten Fettgeweben (Phänomen der Depotbildung) unter körperlicher Belastung erklären. Am 18.3 unternahm die Patientin nämlich einen ersten längeren Spaziergang während der Entgiftungsbehandlung. Konkrete Anhaltspunkte für eine erneute Cannabinoidaufnahme lagen nicht vor.

Auch der nächste Fall spricht gegen die **generelle** Brauchbarkeit der Kreatininkorrektur.

Fall 5**Fallbeschreibung (Fall 5):**

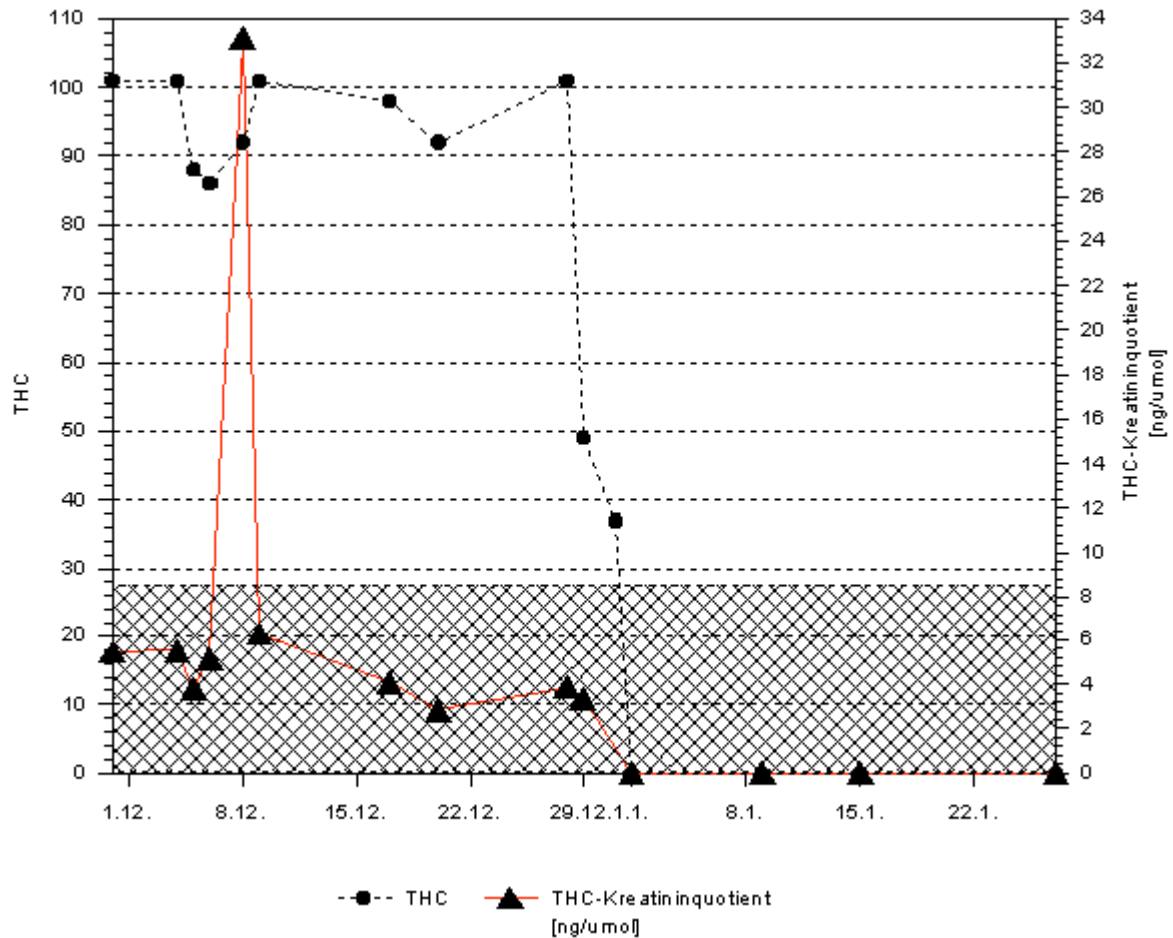
24J. Patient in leicht reduziertem AZ und leicht adipösem EZ. Bekannte Hepatitis B. Es handelt sich um die 2. stationäre Entgiftung bei Opiatabhängigkeit. Im Aufnahmegespräch am 17.8. gab er an, nach der letzten Entlassung vor ca. 6 Monaten sofort rückfällig geworden zu sein. Er habe wieder bis zu 30 Tbl. Flunitrazepam/die, sowie 2 g Stein (Heroin) und 3-4 g normales Heroin (vorwiegend durch die Nase) gezogen. Letzter Drogenkonsum am 16. und 17.8. (am Aufnahmetag) - Heroin, insgesamt 2 g.

Medikation: Carbamazepin 600 mg, Tiapridex 800 mg, Levomepromazin 110 mg/die.

Der Kurvenverlauf ist ähnlich wie im Fall 4. Der Anstieg des Kreatininquotienten weist nicht auf einen möglichen Opiatkonsum hin, sondern ist auf die Schwankungen des Urinkreatininwertes zurückzuführen.

Ein besonders krasses Beispiel für die **Gefahr der unkritischen Anwendung** der Kreatininkorrektur ist im nächsten Fall (Fall 6) dargestellt.

Fall 6



Fallbeschreibung (Fall 6):

Der zunächst imponierende steile Anstieg des Kreatininquotienten am 08.12. ist keinesfalls mit einem Rückfall zu interpretieren. Die Ursache war vielmehr ein extrem niedriger Kreatininwert, der durch die Aufnahme von ca. 2 ½ Liter Mineralwasser unmittelbar vor der Urinabgabe verursacht wurde.

7.1.2 Sensitivitätsprobleme

7.1.2.1 „Falsch-negative“ immunchemische Resultate

Es wurden viele Fälle in der Laborroutine beobachtet, bei denen selbst nach der Applikation übertherapeutischer Dosen von Bromazepam, Flunitrazepam, Lorazepam und Oxazepam verschiedene Immunoassays (ADx, TDxFLx, EMIT, ETS) ein falsch negatives Analysenresultat anzeigten, während die Untersuchung mit anderen analytischen Verfahren stets einen positiven Nachweis erbrachte. Nachdem in den letzten Jahren eine rapide Zunahme der Flunitrazepam-Fälle zu verzeichnen war (während das früher häufig festgestellte Bromazepam und auch klassische

Benzodiazepine eher in den Hintergrund traten), dürfte die Gefahr einer falsch negativen Beurteilung besonders groß sein, wenn man nur immunologische Screening-Tests ohne on-line Hydrolyse einsetzt.

In der Praxis haben sich folgende Screeningstrategien bewährt.

Screening von Flunitrazepam

Es werden insbesondere therapeutische Dosen, aber auch zahlreiche Überdosierungen (z.B. in der Drogenszene), von den enzymimmunologischen und fluoreszenzpolarisationsimmunologischen (FPIA-) Tests meist als negativ oder grenzwertig angezeigt. In diesen Fällen bringt häufig auch der dünnschichtchromatographische Screeningtest kein eindeutiges Resultat (Schütz 1996).

Da Flunitrazepam intensiv metabolisiert wird und darüber hinaus offensichtlich auch starke inter- und intraindividuelle Unterschiede bei der Biotransformation eine Rolle spielen, treten auf der DC-Platte sehr unterschiedliche Anfärbungen mit Bratton-Marshall-Reagenz auf (Schütz 1996).

Als Problemlösung kann die Senkung des Schwellenwertes (Cut-off) dienen.

Da der Fluoreszenz-Polarisations-Immuno-Assay wesentlich empfindlicher als zahlreiche andere immunologische Verfahren ist (95 %-Konfidenzgrenze 40 ng/ml), ist eine Absenkung des Schwellenwertes (Cut-off) von 200 ng/ml auf 50 ng/ml möglich. Da die Tests auch Werte unter 200 ng/ml anzeigen bzw. ausdrucken, genügt es, sich das Resultat genau anzusehen. Man kann allerdings auch die Software so ändern, dass der 50 ng/ml-Schwellenwert bei der Anzeige „unter- oder oberhalb des Cut-off-Wertes“ berücksichtigt wird.

Weiterhin existiert noch eine extraktive Anreicherungs-methode.

Screening von Lorazepam, Lormetazepam, Oxazepam und Temazepam

3-hydroxylierte 1,4-Benzodiazepine (Lorazepam, Lormetazepam, Oxazepam und Temazepam) werden fast stets zu einem hohen Anteil als Konjugate (Glucuronide, Sulfate u.a.) renal eliminiert. Diese Konjugate besitzen keine analytisch brauchbare Kreuzreaktivität gegenüber den gebräuchlichen Antikörpern, so dass selbst beim Vorliegen hoher Konzentrationen der Konjugate (beispielsweise nach deutlichen Überdosierungen) eine falsch negative Anzeige beim immunologischen Screening resultieren kann.

Als Problemlösung erwies sich in diesem Fall die enzymatische Konjugat-spaltung:

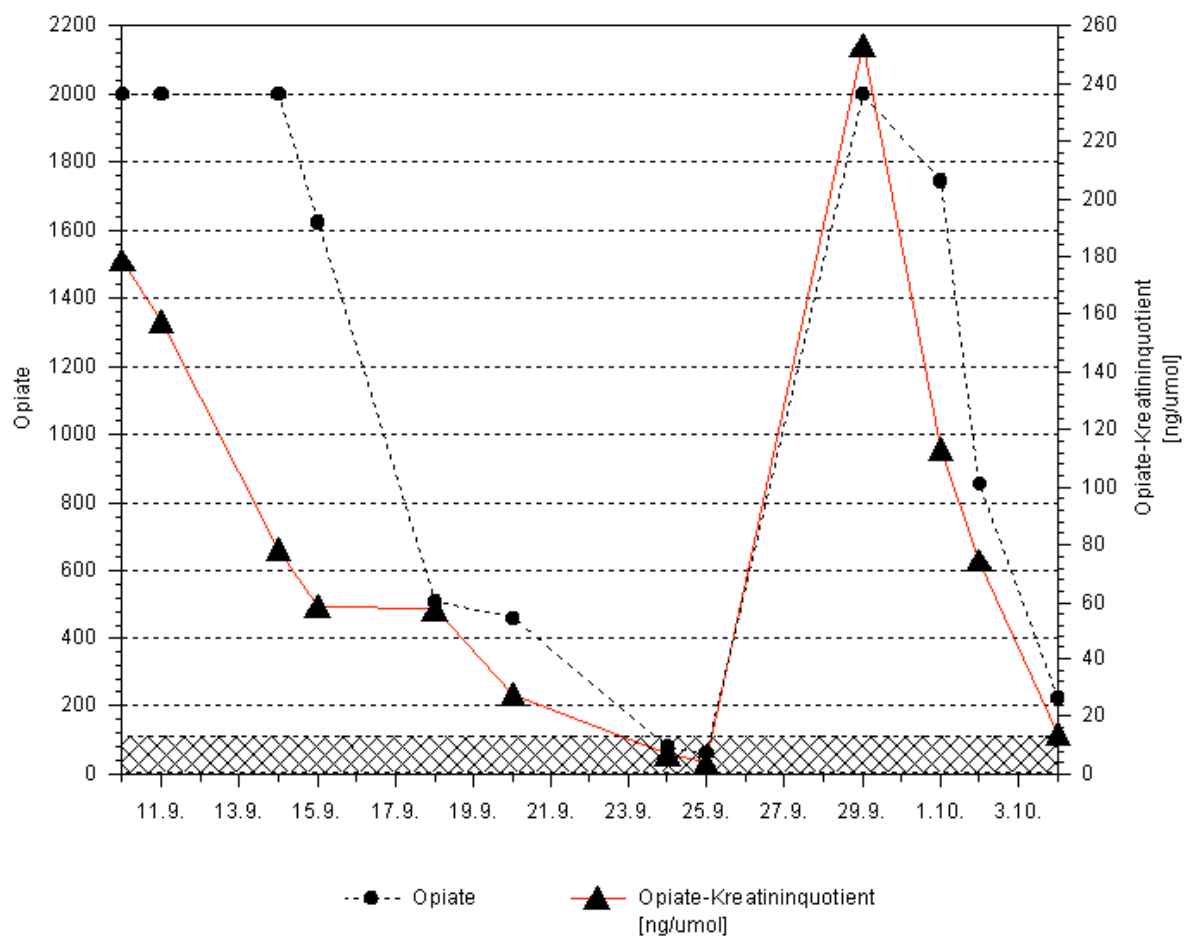
Versetzt man 2 ml Harn, der mit Essigsäure auf pH 5,5 eingestellt wurde, mit 10 µl β -Glucuronidase / Arylsulfatase und inkubiert 1 Stunde bei 55 °C, so erfolgt eine nahezu

quantitative Konjugatspaltung. Freigesetzte Benzodiazepine ergeben nun häufig sogar stark positive immunologische Screeningbefunde.

7.1.2.2 Positive immunchemische Resultate ohne notwendige Bestätigungsanalyse bei Zugabe der Fremdstoffeinnahme.

Eine bewährte Strategie kann darin bestehen, einen betroffenen Patienten zunächst mit dem Ergebnis der immunchemischen Screeninganalyse zu konfrontieren und auf die Möglichkeit eines allerdings aufwendigen und kostspieligen Bestätigungsverfahrens mit der Gaschromatographie / Massenspektrometrie (GC/MS) hinzuweisen. In diesen Fällen kommt es erfahrungsgemäß nicht selten zu einem Geständnis, wie in **Fall 7** erläutert wird.

Fall 7



Fallbeschreibung (Fall 7):

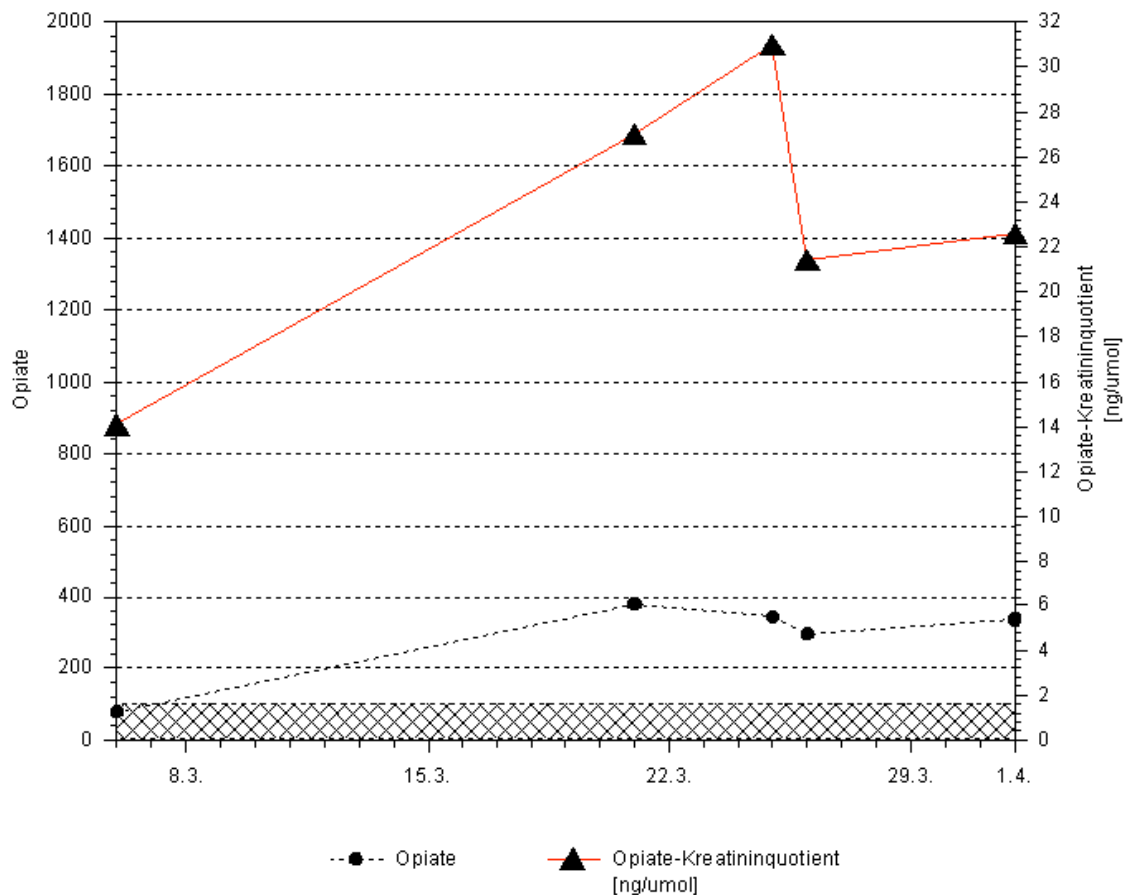
20jährige Patientin in gutem AZ und EZ, seit Jahren drogenabhängig. Seit 4 Monaten sei sie mit Polamidon substituiert worden, zuletzt mit 3,5 ml, habe jedoch öfter Beikonsum von Heroin

gehabt, ca. 1 g/die. Zusätzlich nehme sie Flunitrazepam 18 - 20 Tbl./die ein. Der letzte Heroinkonsum erfolgte am 08.09. - 0,5g durch die Nase. Entgiftung erfolgte unter Subutex-Schutz mit einer Initialdosis von 4,0 mg. Zusätzlich erhielt die Patientin in absteigender Konzentration Oxazepam, Tegretal 600 mg/die und Aponal 125 mg/die, ab dem 3. stationären Tag bei deutlicher Entzugssymptomatik Catapressan 75 4 x 1 Tbl. und bei weiterhin starker Unruhe Chlorprothixen bis 50 mg. Subutex erhielt die Patientin letztmalig am 02.10.2001: 0,4 mg.

Am 29.9.2001 fiel ein drastischer Anstieg des Opiatwertes auf. Der Opiatkreatininquotient stieg ebenfalls deutlich an. Im darauf folgenden Einzelgespräch gab die Patientin die erneute nasale Einnahme von 1,0 g Heroin am 28.08.01 ein. Damit wurde ein Rückfall der Patientin frühzeitig mit Hilfe der Immunoassay-Screeningmethode erkannt. Die zeitnahe therapeutische Intervention ermöglichte es, den Abbruch der Behandlung zu verhindern und die Entgiftung positiv für die Patientin abzuschließen.

7.1.2.3 „Falsch-positive“ immunchemische Resultate

Häufig wird bei einem positiven immunchemischen Screening-Ergebnis einer illegalen Droge deren Einnahme jedoch verneint. In diesen Fällen ist eine valide Bestätigungsanalyse unverzichtbar, wie die **Fälle 8 und 9** deutlich zeigen.

Fall 8**Fallbeschreibung (Fall 8):**

31-jähriger Patient in leicht reduziertem AZ und adipösem EZ. Drogenkonsum seit dem 13. LJ. Methadonsubstitution seit ca. 9 Monaten, mittlerweile mit 10 ml 1%igem Methadon. Die letzte Methadongabe erfolgte am Aufnahmetag morgens (05.03). Zusätzlich Heroinbeikonsum i.v., insgesamt 3 - 5 g/die. Der letzte Heroinkonsum vor 5 Tagen, dazu Kokainkonsum am 04.03.01 ca. 2 g. Diazepamkonsum 100 - 150 mg/die, Flunitrazepam 5 - 10 mg/die.

Bei der Aufnahme EIA-Opiate Test negativ. Entgiftung mit 6 ml L-Polamidon. Die Dosis wurde zunächst schrittweise reduziert in 0,5 ml Schritten. Zusätzlich erhielt er Catapressan 450 mg/die, Tegretal retard 600 mg/die, Chlorprothixen 210 mg/die sowie Doxepin 250 mg/die. Am 09.03.2001 gab der Patient psychotische Symptome (optischen Halluzinationen) an. Die Gabe von Haloperidol bis 20 mg/die, Promethazin 200 mg/die und Stangyl 150 mg/die erbrachte keine Besserung der Symptomatik. Nur unter mehrfacher Gabe von „Ciatyl Z Acuphase“ i.m. bildeten sich die psychotischen Symptome zurück.

Am 16. Behandlungstag wurde ein positiver Opiatbefund im Urin festgestellt. Weitere Screeningkontrollen verliefen für Opiate schwach positiv. Der Patient versicherte glaubhaft, keine Opiate konsumiert zu haben. Daher wurde eine Urinprobe vom 19.03. zur Bestätigungsanalyse mit der GC/MS überprüft. Dabei ergaben sich folgende Resultate:

- Amphetamine, Benzodiazepine, Kokain(Metaboliten), 6-MAM - negativ
- Opiate-positiv (falsch positiv !)
- Trizyklische Antidepressiva - positiv

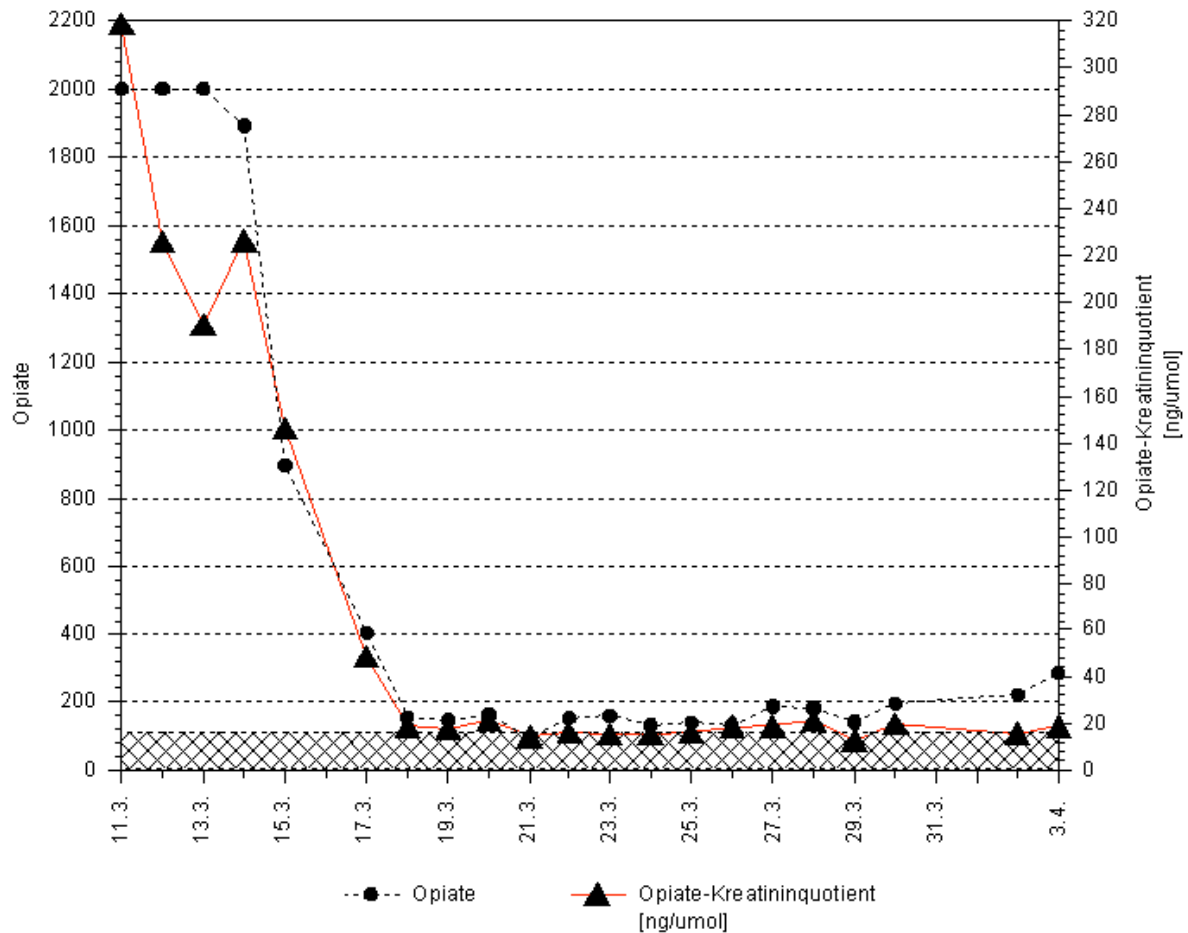
Ergänzende, absichernde und differenzierende Untersuchungen mit Hilfe der besonders nachweisempfindlichen GC/MS sprachen für folgende Wirkstoffe:

- Trimipramin
- Phenothiazin

Diese Substanzen (Trimipramin, Phenothiazin und ihre Metaboliten) bzw. die Kreuzreaktivität mit diesen Substanzen waren für den positiven Opiatetest verantwortlich. Diese Wirkstoffe sind nämlich in den verabreichten Medikamenten wie folgt enthalten:

- „Stangyl“ – Trimipramin
- „Promethazin“ - Phenothiazin

Das immunochemische Opiat-Ergebnis war somit als falsch positiv zu bewerten.

Fall 9**Fallbeschreibung (Fall 9):**

Der Patient kam zum 2. Mal zur stationären Entgiftung und anschließenden Rehabilitationsbehandlung bei Opiatabhängigkeit.

Sein täglicher Konsum belief sich auf 3 - 4 g Heroin (Inhalation). In den frühen Morgenstunden des Aufnahmetages (01.00 Uhr) habe er 0,3 g Heroin geraucht. Zum Aufnahmezeitpunkt beobachtete er an sich selbst bereits Entzugsserscheinungen, wie Frieren, Gliederschmerzen, Unwohlsein und teilweise Krämpfe. In den letzten 4 Wochen Gewichtsabnahme von 4 kg.

Die Entgiftung erfolgte unter absteigenden Subutex-Gaben bei einer Initialdosis von 4,0 mg/die. Zusätzlich erhielt er retardiertes Carbamazepin, Belok Zok mite, Pantozol 40 mg, Trimipramin 200 mg sowie Levomepromazin 50 mg täglich. Auf Grund einer deutlich depressiven Stimmungslage erfolgte eine Dauermedikation mit Remergil 45 mg/die.

Dieser Patient wies über 20 Tage lang einen „Opiatspiegel“ im Urin auf, der meist um 150-200 ng Äqu./ml schwankte. Der über einen längeren Zeitraum positive Opiatwert war jedoch nicht plausibel, da der Patient den Drogenkonsum nach Beginn der Therapie glaubhaft verneinte.

Um die Ursache für die positive Opiatbefunde abzuklären, wurden zwei Urinproben mit GC/MS überprüft.

Probe 1 vom 21.01.04:

- Amphetamine negativ
- Benzodiazepine negativ
- Cannabinoide negativ
- Kokain(Metabolit) negativ
- LSD negativ
- Methadon negativ
- 6-MAM negativ
- Opiate **positiv (falsch positiv!)**
- trizyklische Antidepressiva **stark positiv**

Ergänzende, absichernde und differenzierende Untersuchungen mit Hilfe der besonders nachweisempfindlichen GC/MS sprachen für folgende Wirkstoffe:

- Trimipramin und 5 Stoffwechselprodukte
- Mirtazapin und 3 Stoffwechselprodukte
- Levomepromazin und 1 Stoffwechselprodukt
- Metoprolol

Probe 2 vom 27.01.04:

Bei dieser Probe ergaben sich die gleichen Befunde wie bei Probe 1.

Es zeigte sich bei diesem Patienten, dass offensichtlich eine Kreuzreaktivität mit einem oder mehreren Medikamenten vorlag. Als ursächlich kamen zunächst grundsätzlich Mirtazapin, Metoprolol, Trimipramin und Metaboliten des Levomepromazins in Betracht. Diese Wirkstoffe sind in den nachstehend genannten Medikamenten vorhanden:

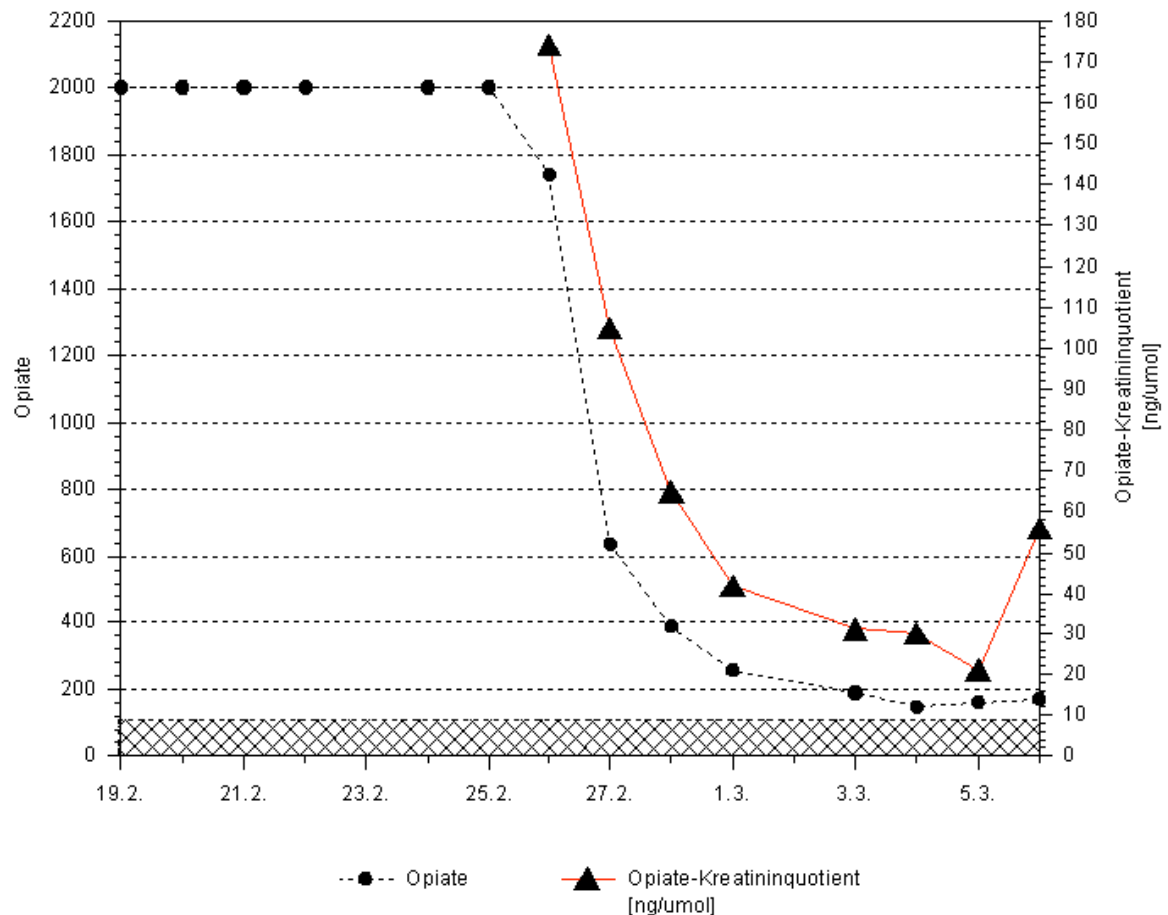
„Stangyl“ - Trimipramin
 „Remergil“ - Mirtazapin
 „Beloc Zok mite“ - Metoprololsuccinat
 „Levomepromazin“ - Levomepromazin

Es muss davon ausgegangen werden, dass das Phenothiazinderivat Levomepromazin bzw. dessen Metaboliten und das trizyklische Antidepressivum Trimipramin für das falsch-positive immunochemische Screeningresultat verantwortlich waren.

In **Fall 10** liegt ebenfalls der Verdacht auf einen falsch-positiven immunochemischen Screeningbefund nahe. Es konnte jedoch keine Bestätigungsanalyse durchgeführt werden. In

derartigen Fällen steht „Aussage gegen Aussage“ was zu einer tiefgreifenden Störung des Vertrauensverhältnisses „Arzt – Patient“ führen kann.

Fall 10



Fallbeschreibung (Fall 10):

Die Patientin war vor ca. 3 Monaten letztmalig aus der Entgiftungsbehandlung entlassen worden. Sie sei danach nur 1 Tag „clean“ geblieben, d.h. sofort mit Heroin rückfällig geworden. Sie habe vor der Aufnahme ca. 10 x/die insgesamt bis zu 5 g Heroin genommen, ansonsten aber keine weiteren Drogen oder Medikamente.

Die Entgiftung verlief unter Subutexschutz mit einer Initialdosis von 4,0 mg/die. Diese Dosis musste am 2. stationären Tag wegen erheblicher Entzugserscheinungen, wie Gliederschmerzen, deutlicher innerer Unruhe, Schlafstörungen und depressiver Verstimmung auf 6,0 mg/die erhöht werden. Zusätzlich erhielt die Patientin Zolof 1x100 mg, Tiapridex 4x100 mg, Aponal 150 mg/d und Chlorprothixen 30 mg/d. Die Patientin hatte ein schweres prolongiertes Drogenentzugssyndrom. Die letzte Subutex-Gabe erfolgte am 07.03.2002 mit 1,0 mg.

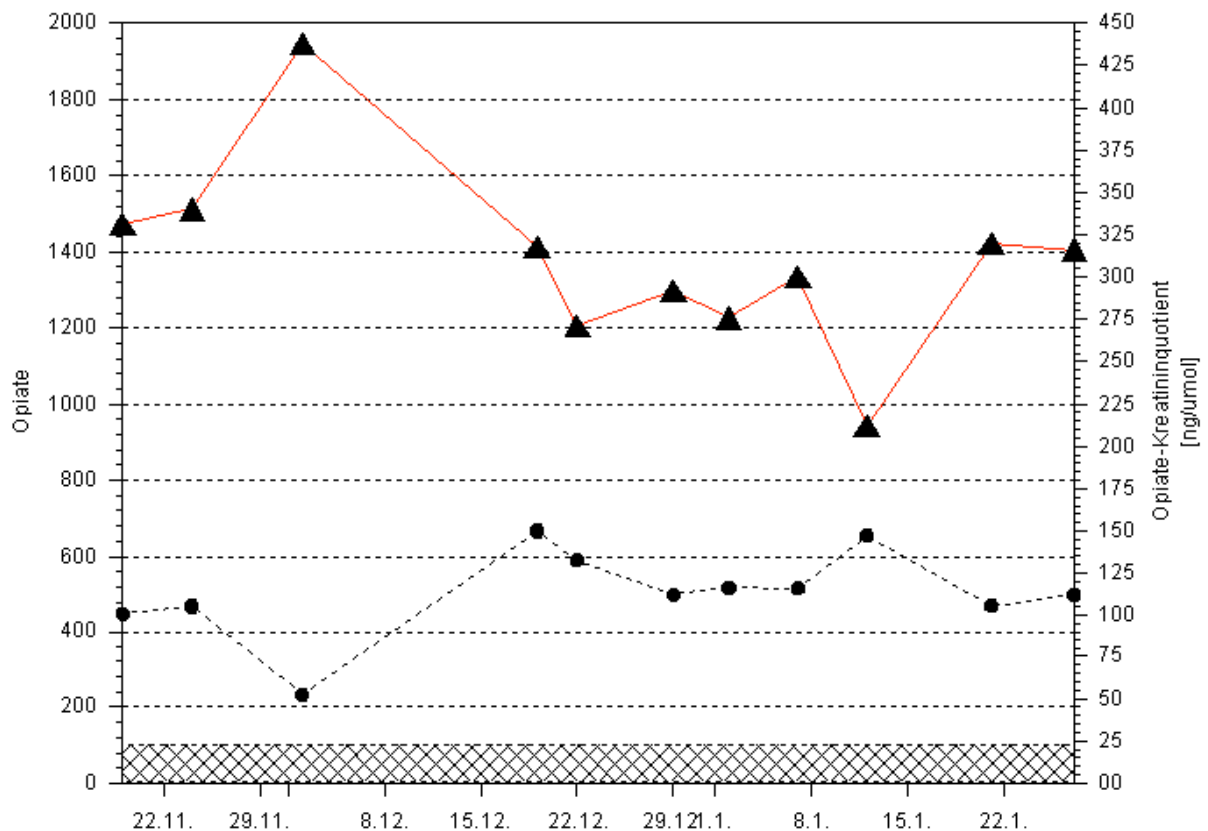
In diesem Fall wurde über 16 Tage lang ein positiver Opiatbefund bei dem immunochemischen Screening beobachtet. Der Opiatspiegel blieb wider Erwarten leicht erhöht und schwankte

zwischen 100 und 200 ng Äqu./ml. Es lagen keinerlei klinische Angaben vor, die auf einen wiederholten Drogenkonsum hinwiesen.

Mit hoher Wahrscheinlichkeit ist für den falsch-positiven immunochemischen Test die Begleitmedikation und hier vor allem das trizyklische Antidepressivum Doxepin sowie der Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer („Zoloft“-Sertralin) verantwortlich. Allerdings wurde bei dieser Patientin keine Bestätigungsanalyse, z.B. mit GC/MS, durchgeführt.

Diese Beispiele belegen deutlich, dass man bei einem Verdacht auf erneuten Drogenkonsum stets sorgfältig überprüfen muss, ob nicht therapeutisch verabreichte Medikamente für das positive Testergebnis ursächlich sind.

Wenn man aus Kostengründen nur auf immunochemische Tests angewiesen ist (dies entspricht leider der aktuellen Situation in fast allen stationären und ambulanten Einrichtungen, die Drogenabhängige behandeln) und die Patienten eine Begleitmedikation und hier insbesondere trizyklische Antidepressiva, Phenothiazinderivate bzw. andere Psychopharmaka oder Analgetika als Dauermedikation erhalten, sollte man einen „individuellen Cut-off-Wert“ definieren. Dies bedeutet, dass bei diesen Patienten der Cut-off-Wert höher festgelegt werden muss, um die falsch-positiven Ergebnisse und damit verbundenen falschen therapeutischen Konsequenzen zu vermeiden.

Fall 11**Fallbeschreibung (Fall 11):**

32-jähriger Patient, kam nach abgeschlossener stationärer Entgiftung zur Rehabilitationsbehandlung bei Polytoxikomanie inkl. Morphintyp. Letzter Heroinkonsum vor 14 Tagen. Der Patient erhielt folgende Medikation: Pantozol 40 mg, Beloc Zok mite 2x1 Tbl. sowie Levomepromazin 10 mg am Tag. Auf Grund einer rezidivierenden depressiven Störung erhielt er eine Dauermedikation von Trimipramin 200 mg, Anafranil 50 mg und Remergil 45 mg/die. Dieser Patient wies über mehreren Wochen einen Opiatspiegel im Urin auf, der meist um 500 ng Äqu./ml schwankte. Der über einen längeren Zeitraum positive Opiatwert war jedoch nicht plausibel, da der Patient glaubhaft versicherte schon seit längerem keine Drogen mehr zu konsumieren. Eine Bestimmung des Serumspiegels fiel negativ aus. Um die Ursache für die positiven Opiatbefunde abzuklären, wurden zwei Urinproben mit GC/MS überprüft.

Probe 1 vom 21.01.04:

Immunchemische Screening Tests (CEDIA)

- | | |
|---------------------|---------|
| • Amphetamine | negativ |
| • Benzodiazepine | negativ |
| • Cannabinoide | negativ |
| • Kokain(Metabolit) | negativ |
| • LSD | negativ |
| • Methadon | negativ |

- 6-MAM negativ
- Opiate **positiv (falsch positiv!)**
- trizyklische Antidepressiva **stark positiv**

Ergänzende, absichernde und differenzierende Untersuchungen mit Hilfe der besonders nachweisempfindlichen GC/MS sprachen für folgende Wirkstoffe:

- Trimipramin und 5 Stoffwechselprodukte
- Mirtazapin und 3 Stoffwechselprodukte
- Metoprolol
- Stoffwechselprodukt des Levomepromazin

Probe 2 vom 27.01.04:

Bei dieser Probe ergaben sich die gleichen Befunde der immunochemischen Screening Tests wie bei Probe 1.

Ergänzende, absichernde und differenzierende Untersuchungen mit Hilfe der besonders nachweisempfindlichen GC/MS sprachen für folgende Wirkstoffe:

- Trimipramin und 5 Stoffwechselprodukte
- Mirtazapin und 3 Stoffwechselprodukte
- Metoprolol
- Levomepromazin und 1 Stoffwechselprodukt

Es zeigte sich auch bei diesem Patienten, dass offensichtlich eine Kreuzreaktivität mit einem oder mehreren Medikamenten oder deren Metaboliten vorlag. Als ursächlich kamen zunächst grundsätzlich Mirtazapin, Trimipramin und Metaboliten des Levomepromazins in Betracht. Diese Wirkstoffe sind in den nachstehend genannten Medikamenten enthalten:

„Stangyl“ - Trimipramin

„Remergil“ - Mirtazapin

„Levomepromazin“ - Levomepromazin

Somit muss davon ausgegangen werden, dass das Phenothiazinderivat Levomepromazin bzw. dessen Metaboliten und das trizyklische Antidepressivum Trimipramin für das falsch-positive immunochemische Testresultat verantwortlich sind.

Die Massenspektren zu den beschriebenen ausgewählten Fällen befinden sich im Anhang.

Umfangreiche spezielle Literatur zum Thema „Spezifität von Immunassays“ befindet sich ebenfalls im Anhang hinter dem allgemeinen Literaturverzeichnis.

7.1.3 Weitere Probleme

Abschließend sollen noch 2 weitere Probleme beim Screening von Harnproben angesprochen werden, die häufig wenig oder keine Beachtung finden:

a) Einfluss des pH-Wertes im Urin auf das immunchemische Screeningresultat

Bekanntlich hängt die renale Ausscheidungsgeschwindigkeit von basischen und sauren Fremdstoffen stark vom pH-Wert des Harnes ab, der wiederum im wesentlichen von Ernährungsgewohnheiten und der Einnahme anderer Fremdstoffe (z.B. Medikamenten wie Salicylaten u.a.). So findet man bei vegetarischer Ernährung häufig eine alkalische und bei fleischbetonter eine eher saure Stoffwechselsituation. Dies kann erhebliche Konsequenzen für die Interpretation von Immunoassays haben.

Beispiel: Amphetamine und andere basische Stoffe (die meisten Arzneimittel!) werden mit saurem Harn viel schneller ausgeschieden als mit alkalischem. Würde beispielsweise ein Patient mit vegetarischen Ernährungsgewohnheiten plötzlich auf Mischkost umgestellt (z.B. nach der Aufnahme in einer Klinik) oder würden Salicylate verabreicht, so könnte ein Immunoassay plötzlich einen höheren Wert anzeigen, obwohl überhaupt keine neue Einnahme erfolgte.

Zur Erkennung und Kontrolle derartiger Schwankungen sollte daher stets auch der pH-Wert des Harnes gemessen und protokolliert werden.

b) Einfluss von Erkrankungen der Eliminationsorgane

Einen großen Einfluss auf die Geschwindigkeit der Ausscheidung hat auch die Eliminationshalbwertszeit, die bekanntlich mit zunehmendem Alter und bei Leber- und Nierenkrankheiten erheblich verlängert sein kann. Beim Diazepam sind beispielsweise Schwankungsbreiten zwischen etwa 20 und über 100 Stunden bekannt. Man muss daher damit rechnen, dass ansonsten bewährte Faustregeln, wonach beispielsweise Kokain oder Heroin maximal etwa 3 bis 4 Tage im Harn nachweisbar ist, bei entsprechenden Krankheiten der Eliminationsorgane nicht mehr gültig sein müssen. Dies würde bedeuten, dass sich beispielsweise noch nach einer Woche ein Wert knapp oberhalb des Cut-Off feststellen ließe, der keinesfalls mit einer erneuten Einnahme interpretiert werden darf.

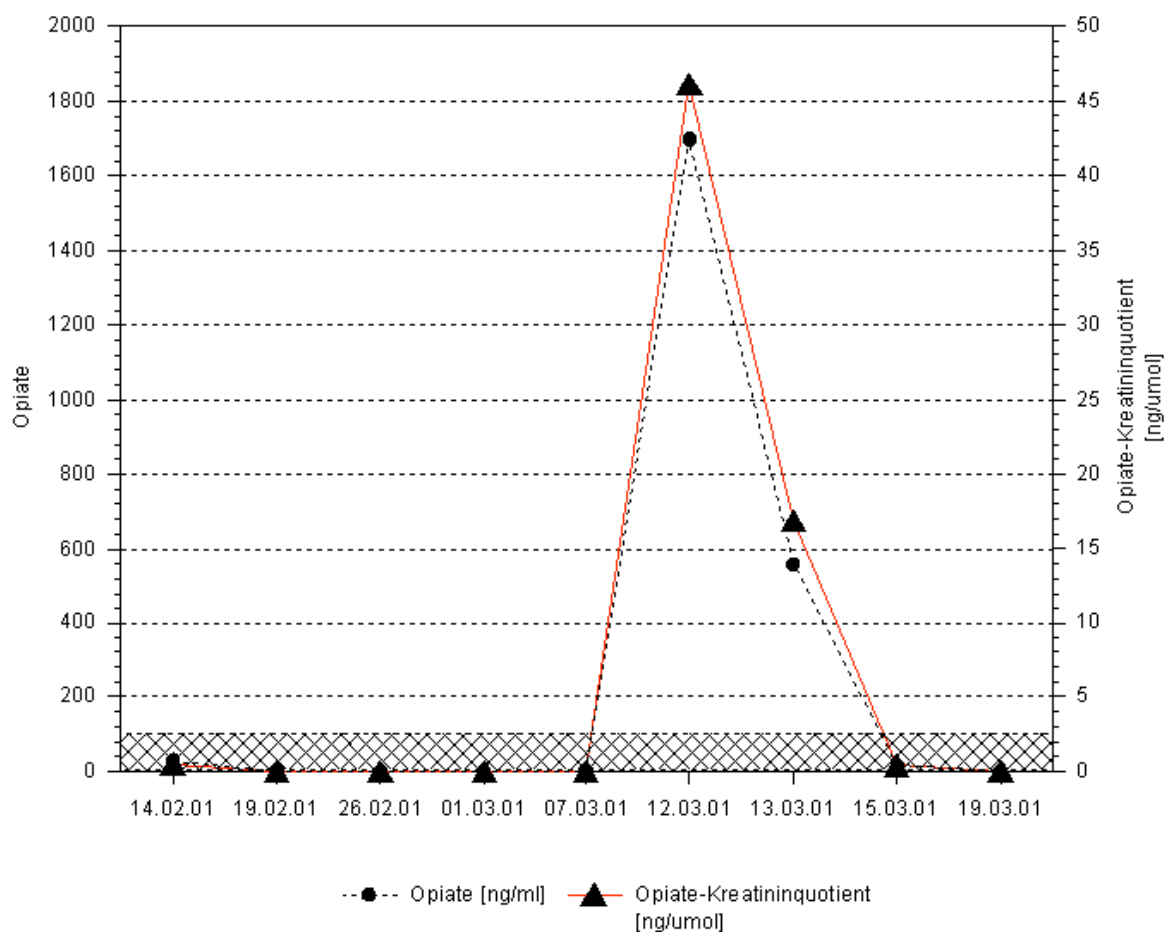
Mit weiteren Einflussgrößen, wie etwa tageszeitlichen und anderen Biorhythmen sowie zusätzlichen Effekten muss sicher ebenfalls gerechnet werden.

7.2 Aktuelle Bestätigungsanalytik und Differenzierung mit der Gaschromatographie / Massenspektrometrie (GC/MS) nach dem Konsum von Mohnprodukten

Die Gaschromatographie / Massenspektrometrie konnte im Rahmen dieser Arbeit weiterhin zur Klärung aktueller Fälle herangezogen werden, bei denen 5 Patienten angaben, dass der bei ihnen positiv ausgefallene Opiatimmunoassay auf dem Verzehr von Mohnkuchen zurückzuführen sei.

Bei 5 Patienten, die wegen einer Alkohol- bzw. Drogenabhängigkeit in der Reha-Klinik aufgenommen wurden, konnte im Urin mit routinemäßigem Drogenscreening ein positiver Befund für Opiate festgestellt werden. Bei 2 Patienten war ein Opiatkonsum in der Anamnese nicht bekannt. Während der Therapie waren die Patienten „clean“ bzw. versicherten, keine Drogen konsumiert zu haben. Nach eingehenden Gesprächen stellte sich aber heraus, dass alle 5 Patienten am Vortag jeweils ein ca. 170 Gramm schweres Stück Mohnkuchen verzehrt hatten.

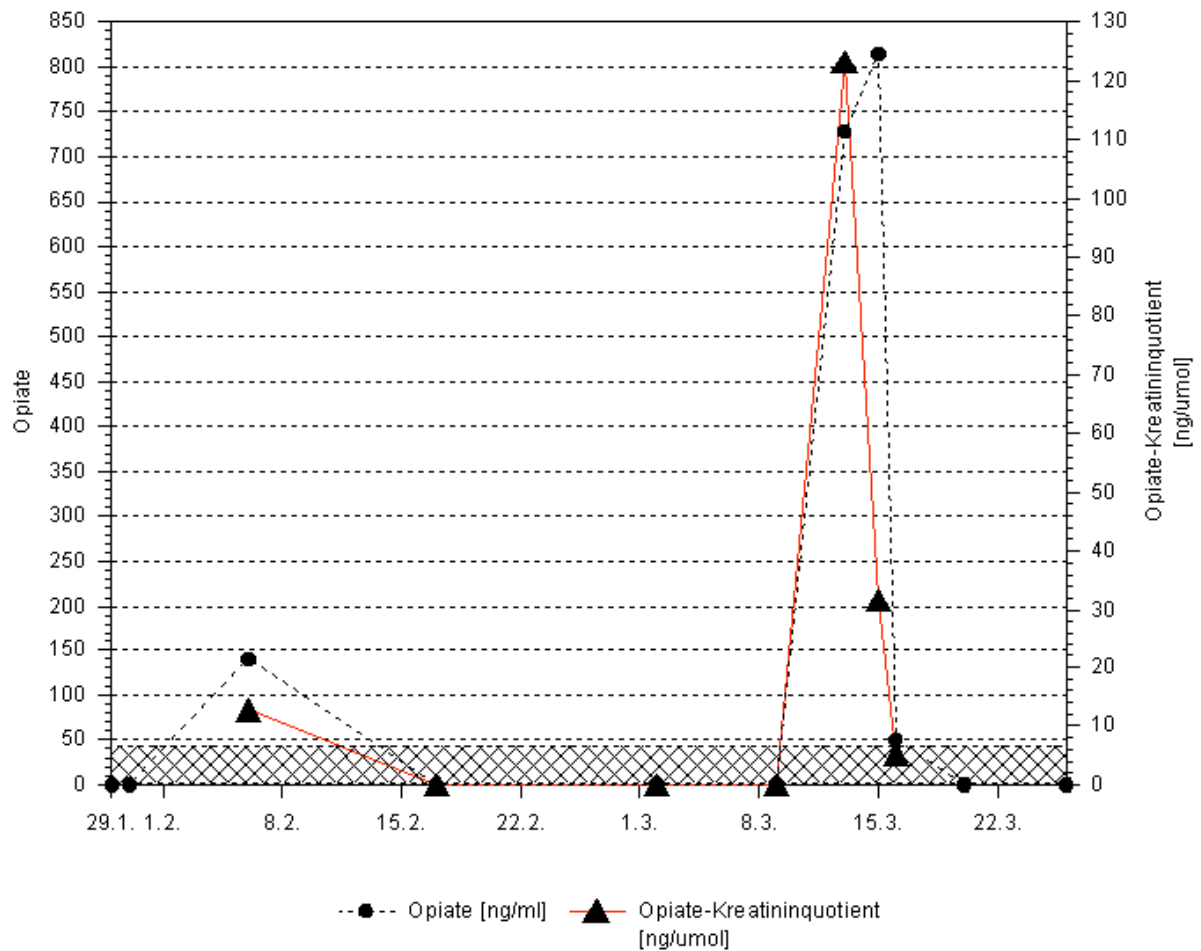
Fall 12



Fallbeschreibung (Fall 12):

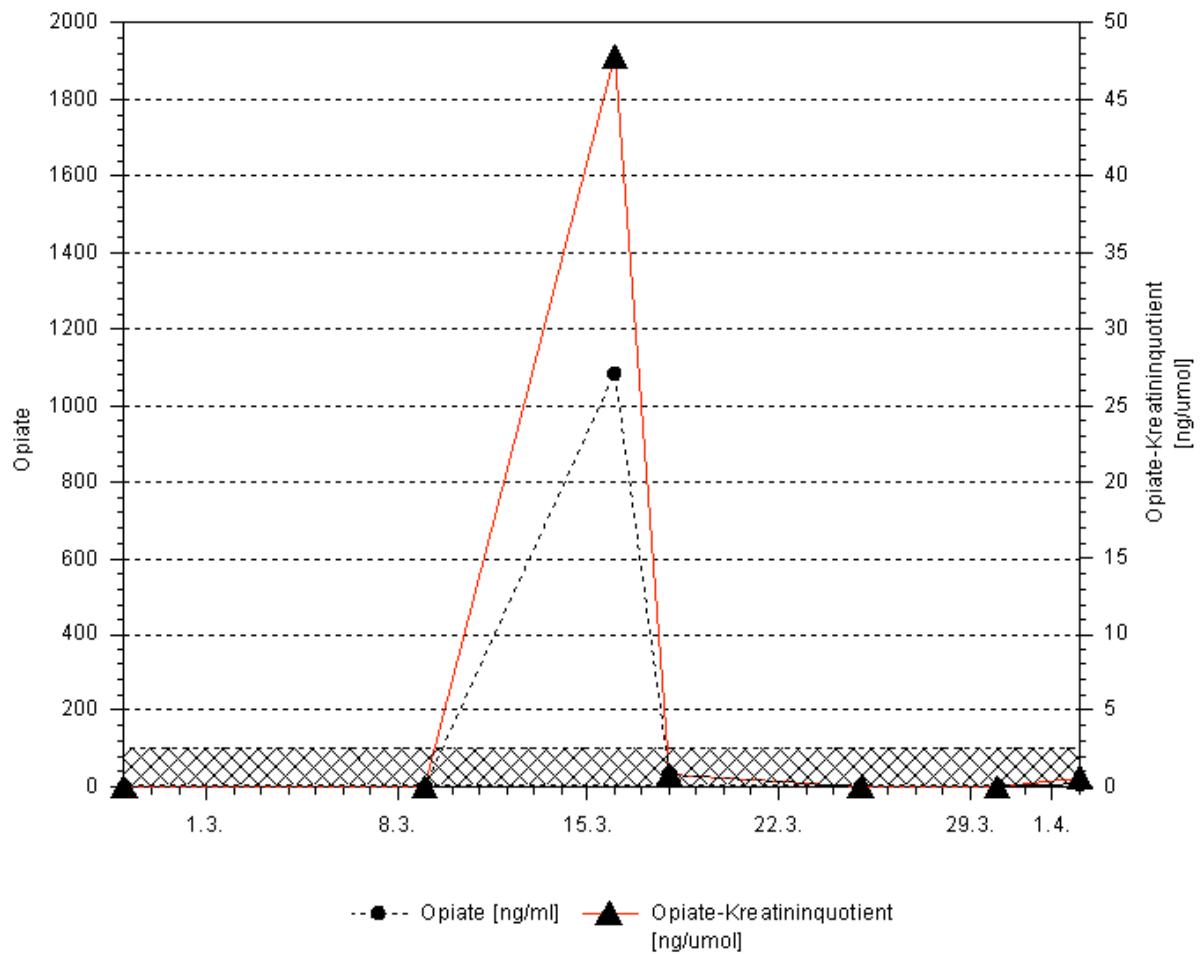
Bestätigungsanalyse mit GC/MS vom 12.03.2001 nach positivem immunochemischen Screening:

- **Morphin positiv**
- 6-MAM negativ

Fall 13**Fallbeschreibung (Fall 13):**

34J. Patient, seit ca. 5 Jahren Cannabisabhängigkeit. In der Vorgeschichte kein Opiatkonsum. Bestätigungsanalyse mit GC/MS vom 12.03.2001 nach positivem immunochemischen Screening :

- **Morphin positiv**
- 6-MAM negativ

Fall 14**Fallbeschreibung (Fall 14):**

Bestätigungsanalyse mit GC/MS vom 15.03.2001 nach positivem immunochemischen Screening :

- **Morphin positiv**
- 6-MAM negativ

Da ein entsprechender Einfluss von Mohn auf den immunochemischen Opiatetest damals noch kaum bekannt war, überprüften drei Mitarbeiterinnen des Labors den Sachverhalt im Eigenversuch. Der entsprechende Mohnkuchen wurde aus der Küche der Klinik angefordert und verzehrt. Danach ergab sich bei allen Personen innerhalb von 24 Stunden ein positiver immunochemischer Opiatbefund im Urin.

Nach Angaben von Hayes et al. (1987) enthalten Mohnsamen je nach Sorte zwischen 17- 294 Mikrogramm Morphin und 3- 14 Mikrogramm Codein pro Gramm. Dies bedeutet wiederum, dass

in einem Küchenstück, das etwa 50 Gramm Mohnsamen enthält, zwischen 0,9 -15mg Morphin bzw. 0,1-0,7 mg Codein enthalten sein können. Nach Angaben von Foley (1991) liegt die Schwellendosis für analgetische und euphorisierende Effekte bei Morphin nach oraler Einnahme bei 60 mg, nach Jage (1990) bis 30 Milligramm. Dies bedeutet, dass bei Erwachsenen nach Genuss vom Mohn in üblichen Mengen keine relevanten zentralen Wirkungen zu erwarten sind. Hayes et al. (1987) berichteten weiterhin, dass nach Konsum von 25 Gramm Mohn sogar nach 3 oder 4 Tagen noch ein positiver Opiatbefund im Urin mit den herkömmlichen Emit-bzw. GC -MS resultieren kann. Dies wurde auch in unserem Versuch bestätigt. Die Autoren fanden allerdings keine euphorisierenden oder analgetischen Effekte, wenn gesunden männlichen Versuchspersonen eine Menge von 25 Gramm Mohnsamen verabreicht wurde.

Grundlagen und Erklärung: Nach Morphinkonsum tritt nur Morphin im Harn auf. Nach Codeinkonsum findet man im Harn dagegen Codein und dessen Stoffwechselprodukt Morphin, wobei in den ersten 2 Tagen der Codeinanteil höher als der Morphinanteil ist, später kann aber der Morphinanteil den des Codeins allerdings überschreiten. Nach Heroinkonsum findet man im Harn in erster Linie Morphin als dessen Hauptstoffwechselprodukt sowie häufig Codein, Meconin und Papaverin. Dabei ist zu berücksichtigen, dass Codein, Meconin und Papaverin keine Stoffwechselprodukte des Heroins sind, sondern im „Straßenheroin“ bereits als Verunreinigungen enthalten. Findet man allerdings auch noch 6-Monoacetylmorphin (6-MAM), dann ist der Konsum von Heroin bewiesen, **da 6-MAM nur aus Heroin entstehen kann**. Der fehlende Nachweis von 6-MAM schließt einen Heroinkonsum andererseits jedoch nicht aus, da 6-MAM sehr hydrolyselabil ist und in vitro (z.B. bei Lagerung) zu Morphin umgewandelt wird.

Wird von Drogenabhängigen bei positiven Opiatbefunden der Verzehr von Mohnkuchen als Erklärung (Ausrede?) genutzt, so kann somit durch zusätzliche Bestimmung des typischen Heroinmarkers 6-MAM (6-Monoacetylmorphin), einem Metaboliten des Heroin, der Heroinmissbrauch gegenüber dem Genuss von Mohnsamen beweissicher abgegrenzt werden.

8. Zusammenfassung und Ausblick

Es wurde überprüft, ob und in welchem Umfang sich ein Drogenscreening zur Drogenerkennung und -überwachung während der stationären Entgiftungs- und Entwöhnungsbehandlung **ausschließlich** auf Immunoassays stützen kann.

Bei einer Drogenentzugsbehandlung soll mittels Drogenscreening erkannt werden, ob die Aufnahme von Drogen tatsächlich eingestellt, heimlich fortgesetzt oder aber durch die Einnahme anderer Drogen oder Medikamente substituiert wurde (sog. Beigebrauch).

Fast alle Patienten erhalten Psychopharmaka als flankierende Therapie des Entzugssyndroms oder wegen anderen polymorphen psychischen Symptomen. Die häufigsten Substanzgruppen sind trizyklische Antidepressiva, Serotonin-Wiederaufnahme-Inhibitoren sowie Phenothiazine. Einige Patienten mussten auch Medikamente wegen somatischen Begleiterkrankungen einnehmen. Dieser Faktor erhöht die Wahrscheinlichkeit einer **Kreuzreaktivität** bei den Immunoassay-Screeningtests deutlich. Die Kreuzreaktivität mit unterschiedlichen Medikamenten bei den Immunoassays ist zwar ein bekanntes Phänomen; vom Testgerätehersteller erhält man jedoch in der Regel zwar umfangreiche aber immer noch unzureichende und ungenaue Angaben zu diesem Thema. Dabei muss stets grundsätzlich auch die Möglichkeit der noch nicht bekannten Kreuzreaktion bei neueren therapeutischen Substanzen berücksichtigt werden.

Die Mehrheit der im Rahmen dieser Arbeit erfassten Patienten befand sich in der Klinik zum stationären Opiatentzug. Bei der Interpretation der Ergebnisse des Drogenscreenings dieser Patienten entstanden die Probleme auch am häufigsten. Diese Patienten erhielten in der Regel mehrere Präparate zur Behandlung der psychischen und somatischen Symptome und wiesen oft unzureichende Eigen- und starke Fremdmotivation, wie zum Beispiel eine Therapieauflage oder ein laufendes Gerichtsverfahren, auf. In Einzelfällen musste auch der Verdacht einer Manipulation an Proben ausgeschlossen werden.

Im Alltag ist die Interpretation der positiven Befunde bei den Immunoassay-Screeningtests oft problematisch, da die klinische Beobachtungen und die Angaben der Patienten durchaus auch eher gegen einen Drogenrückfall sprechen können. Aber auch wenn z.B. Opiate die Ursache für das positive Ergebnis sind, der Test also nicht „falsch-positiv“ ist, kann man allein aufgrund des Immunoassays **nicht** zwischen den Opiaten Morphin, Codein, Dihydrocodein und Heroin unterscheiden. Allenfalls kann ein weiterer spezieller Immunoassay auf 6-MAM (dem Heroinmarker) zu einer Differenzierung führen. Die Unterscheidung ist aber äußerst wichtig, da das Opiat Codein z.B. als Hustenmittel verschreibungsfähig ist, während das Opiat Heroin als nicht verkehrsfähiges BTM strafrechtlich sanktioniert ist.

Eine Berücksichtigung des **Urinkreatininwertes** bzw. das Etablieren eines **individuellen Cut-off** kann in einzelnen Fällen die Interpretation der Ergebnisse der Immunoassays, besonders über einen längeren Zeitraum, in gewisser Weise erleichtern.

Die Immunoassays für den Nachweis von Drogen im Urin haben grundsätzlich **qualitativen** Charakter. Außerdem ist die mit Immunoassays erfassbare Stoffauswahl nur auf **wenige Substanzgruppen** begrenzt. Somit können viele relevante Fremdstoffe (z.B. die Hypnotika Zolpidem und Zopiclon oder Opioide ohne Morphinstruktur, wie z.B. Nefopam, Pethidin Tilidin, Tramadol u.a.) glatt übersehen werden. Weiterhin besteht die permanente Gefahr „**falsch-positiver**“ und „**falsch-negativer**“ Ergebnisse und keine verlässliche Möglichkeit der **Differenzierung** zwischen einzelnen Wirkstoffen einer Substanzklasse.

Eine zweifelsfreie und somit beweissichere Analyse, die im forensischen Bereich inzwischen unverzichtbar ist, gelingt daher nur im Rahmen der Bestätigungsanalyse, vorzugsweise der Gaschromatographie in der Kombination mit der Massenspektrometrie (GC/MS).

Es ist zu hoffen, dass die preisgünstigen und relativ unkomplizierten Massenspektrometer der neuen Gerätegeneration auch trotz des Aspektes eines wachsenden Kostendrucks im Gesundheitswesen bald auch für kleinere Krankenhäuser und deren Laboratorien verfügbar gemacht werden können.

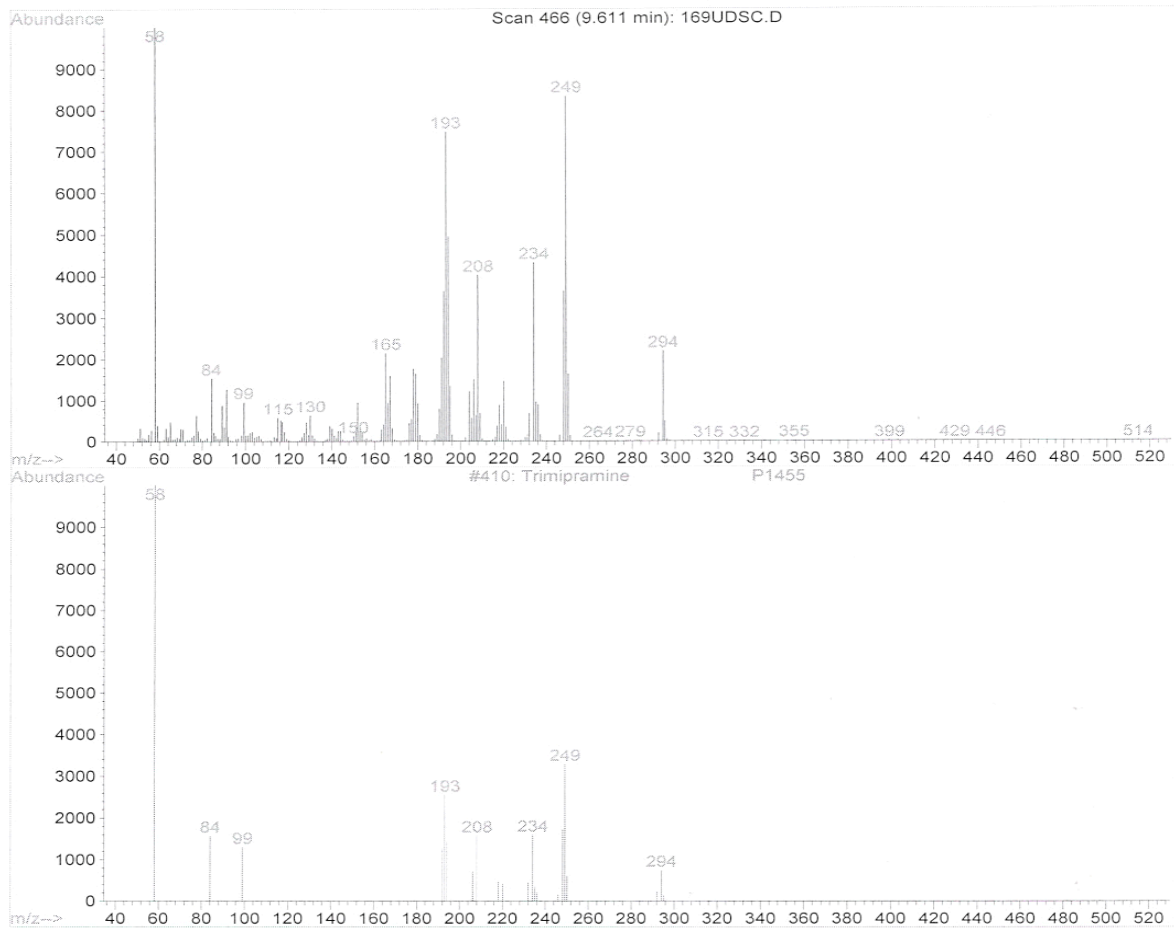
9. Anhang

Die Spektren der gaschromatographischen Untersuchungen zum Fall 11.

Probe vom 21.01.2004

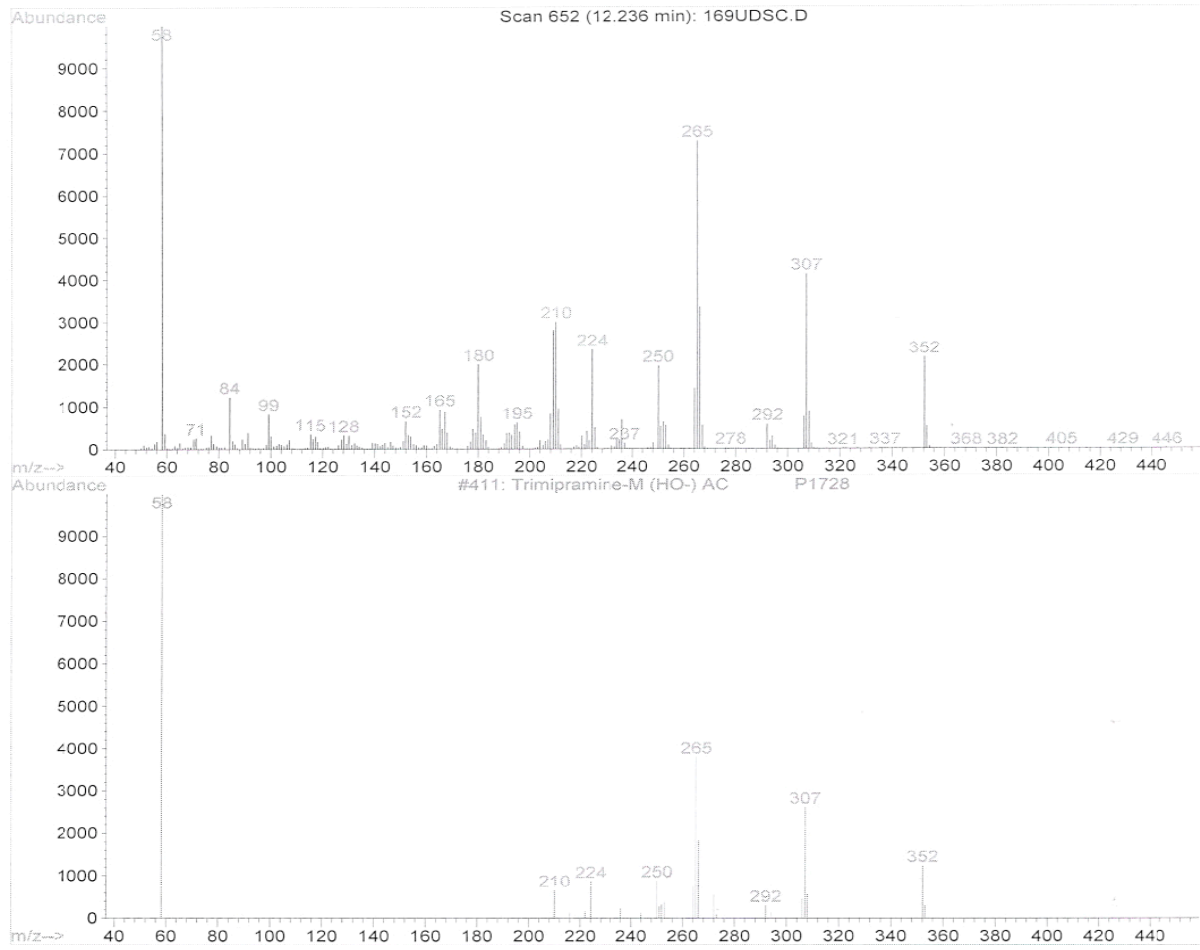
Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 91
ID : Trimipramine

P1455



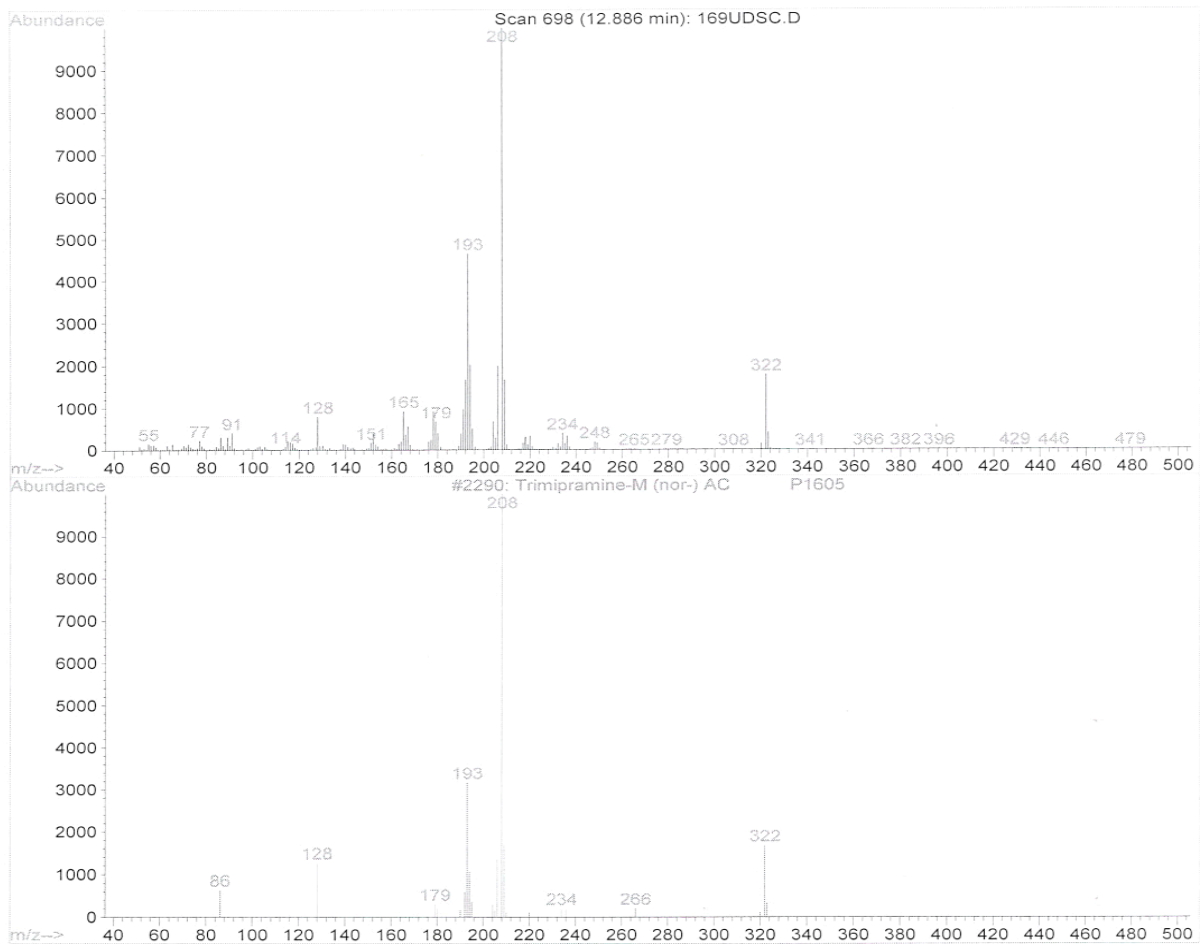
Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 90
ID : Trimipramine-M (HO-) AC

P1728

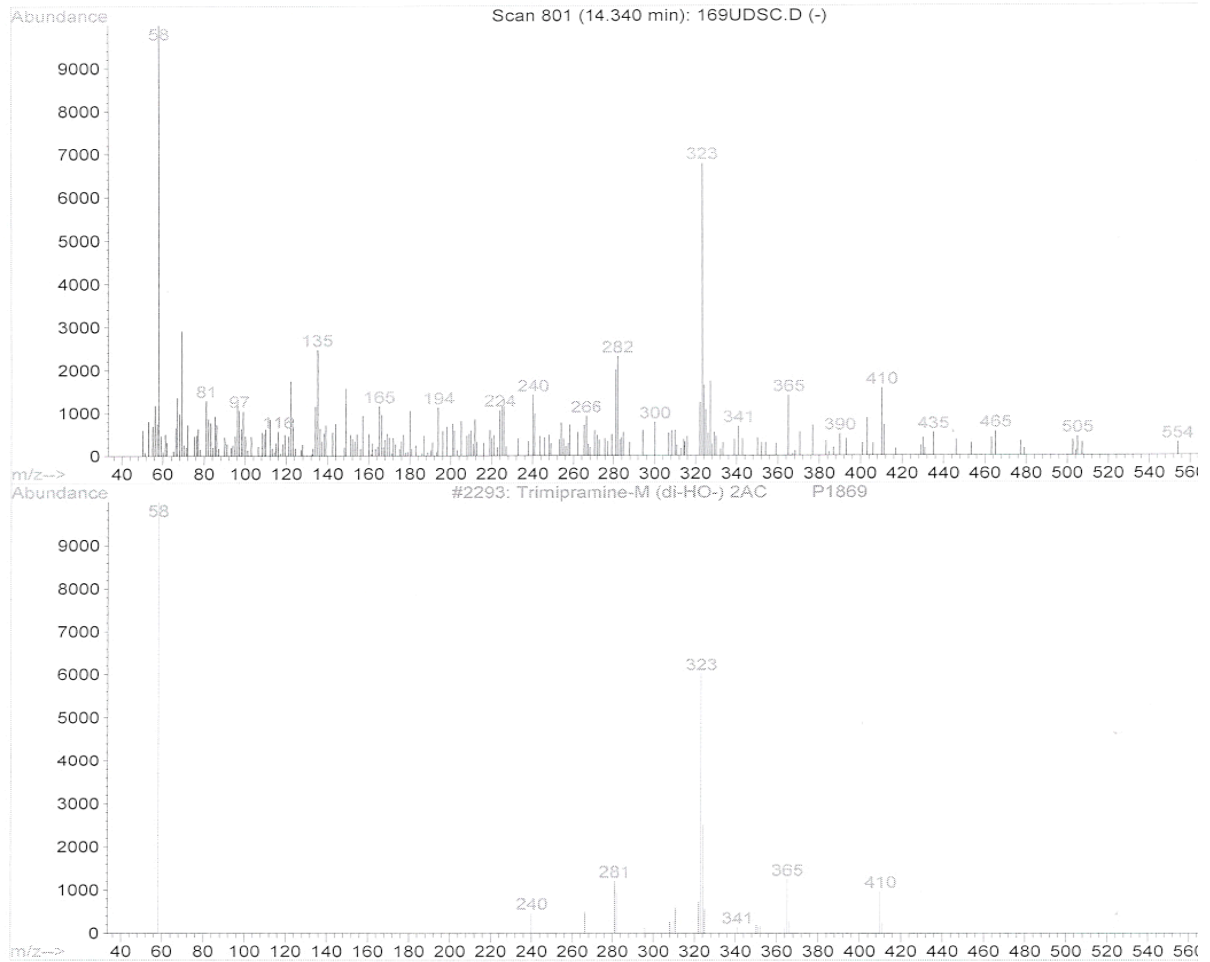


Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 90
ID : Trimipramine-M (nor-) AC

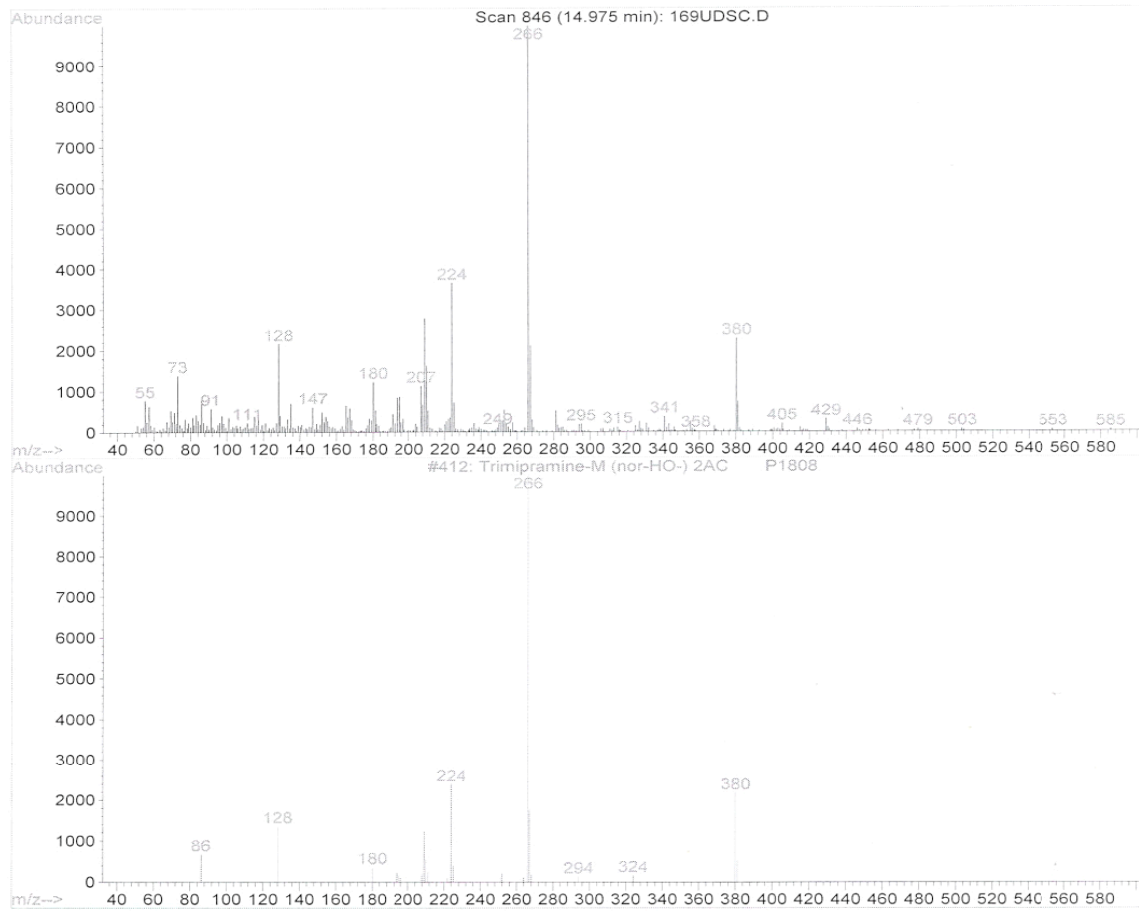
P1605



Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 87
ID : Trimipramine-M (di-HO-) 2AC P1869

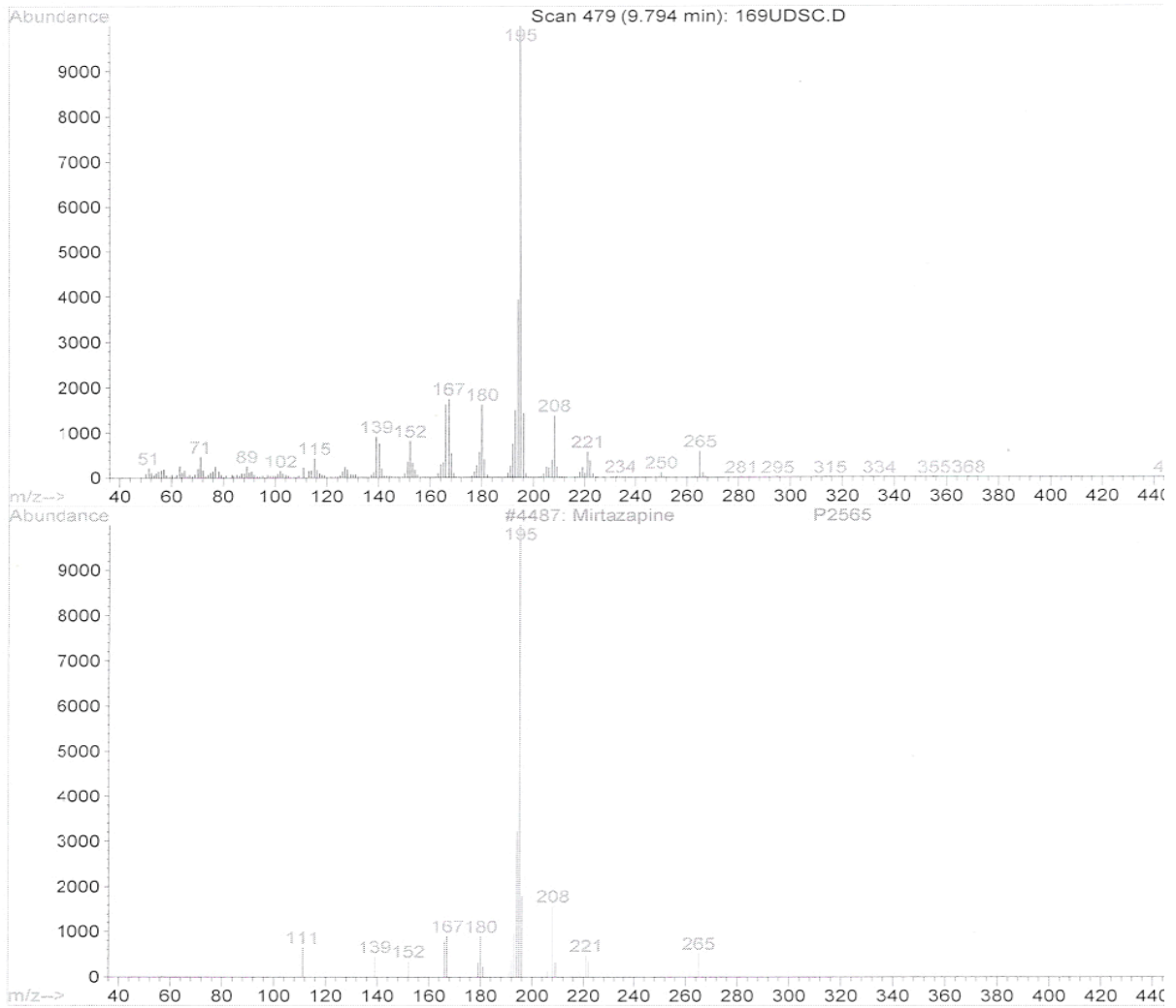


Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 91
ID : Trimipramine-M (nor-HO-) 2AC P1808



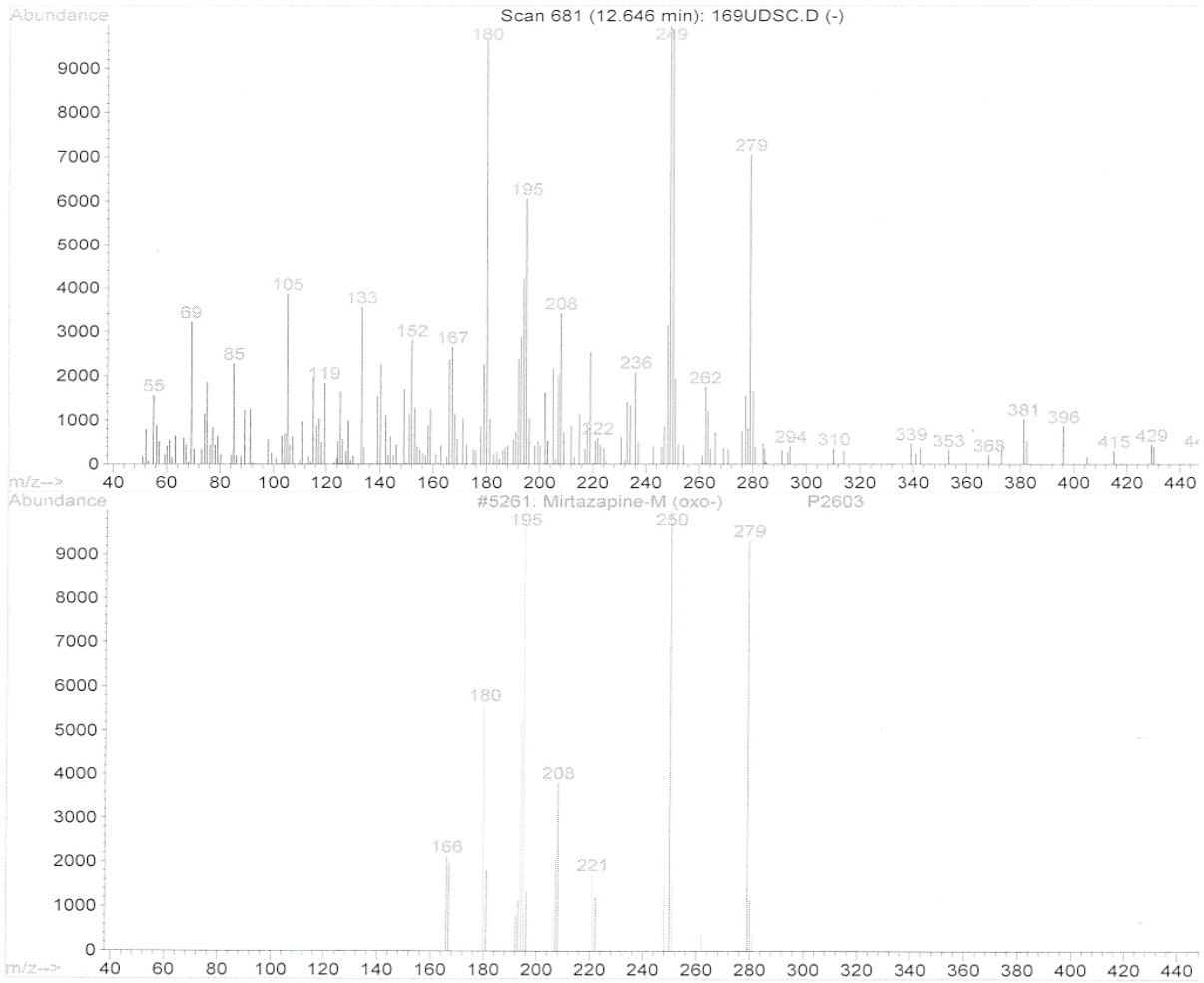
Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 90
ID : Mirtazapine

P2565



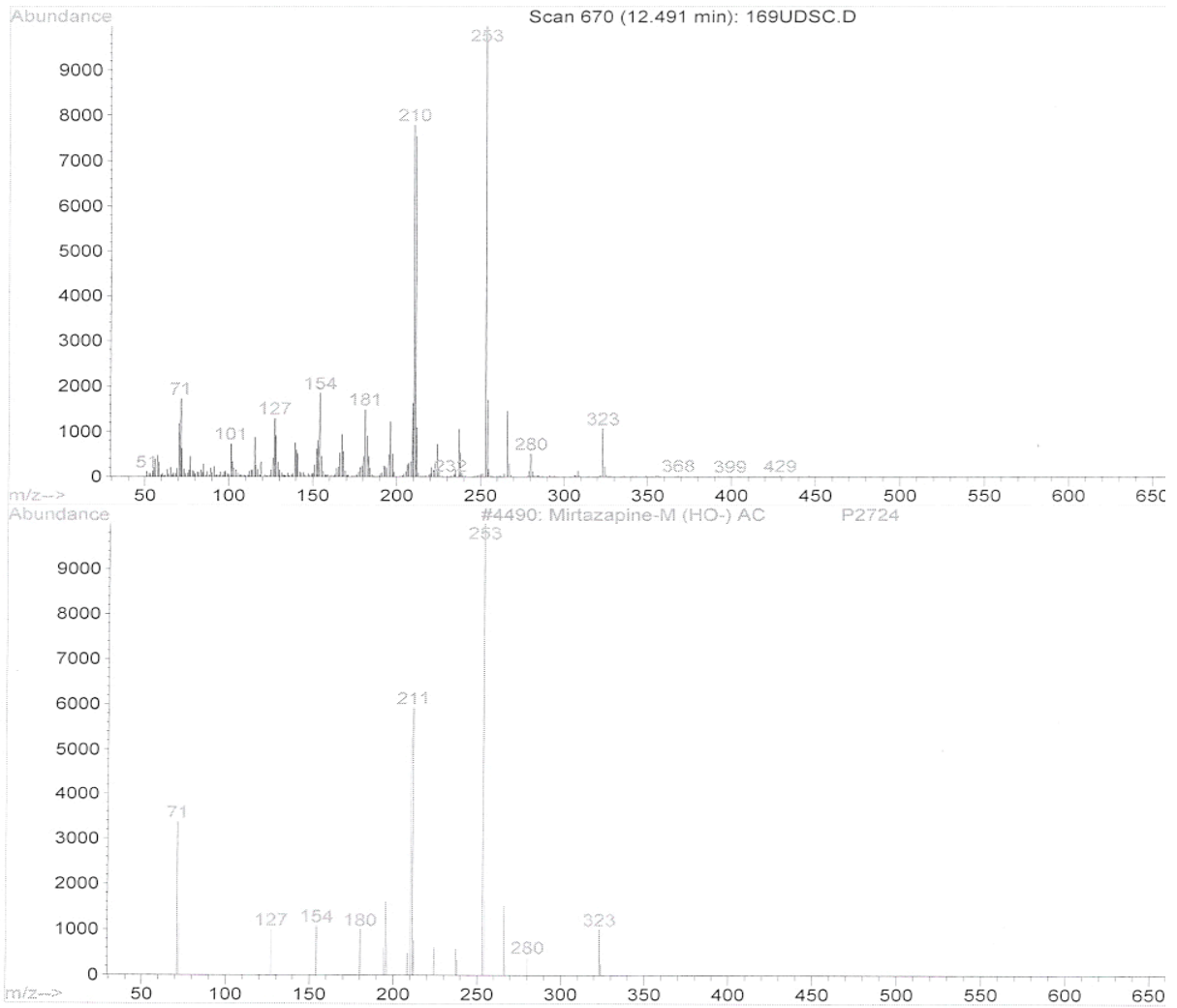
Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 49
ID : Mirtazapine-M (oxo-)

P2603



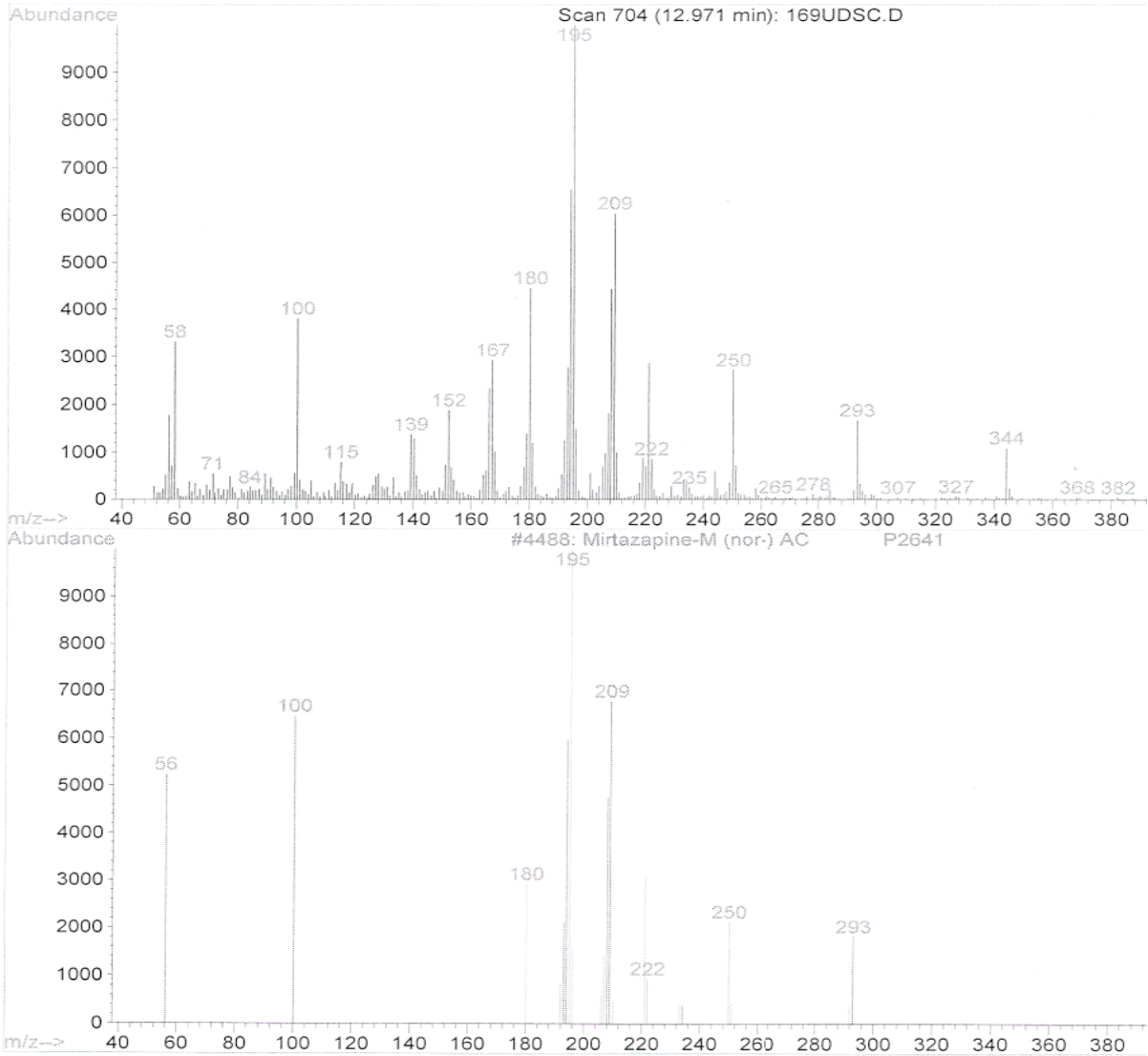
Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 91
ID : Mirtazapine-M (HO-) AC

P2724

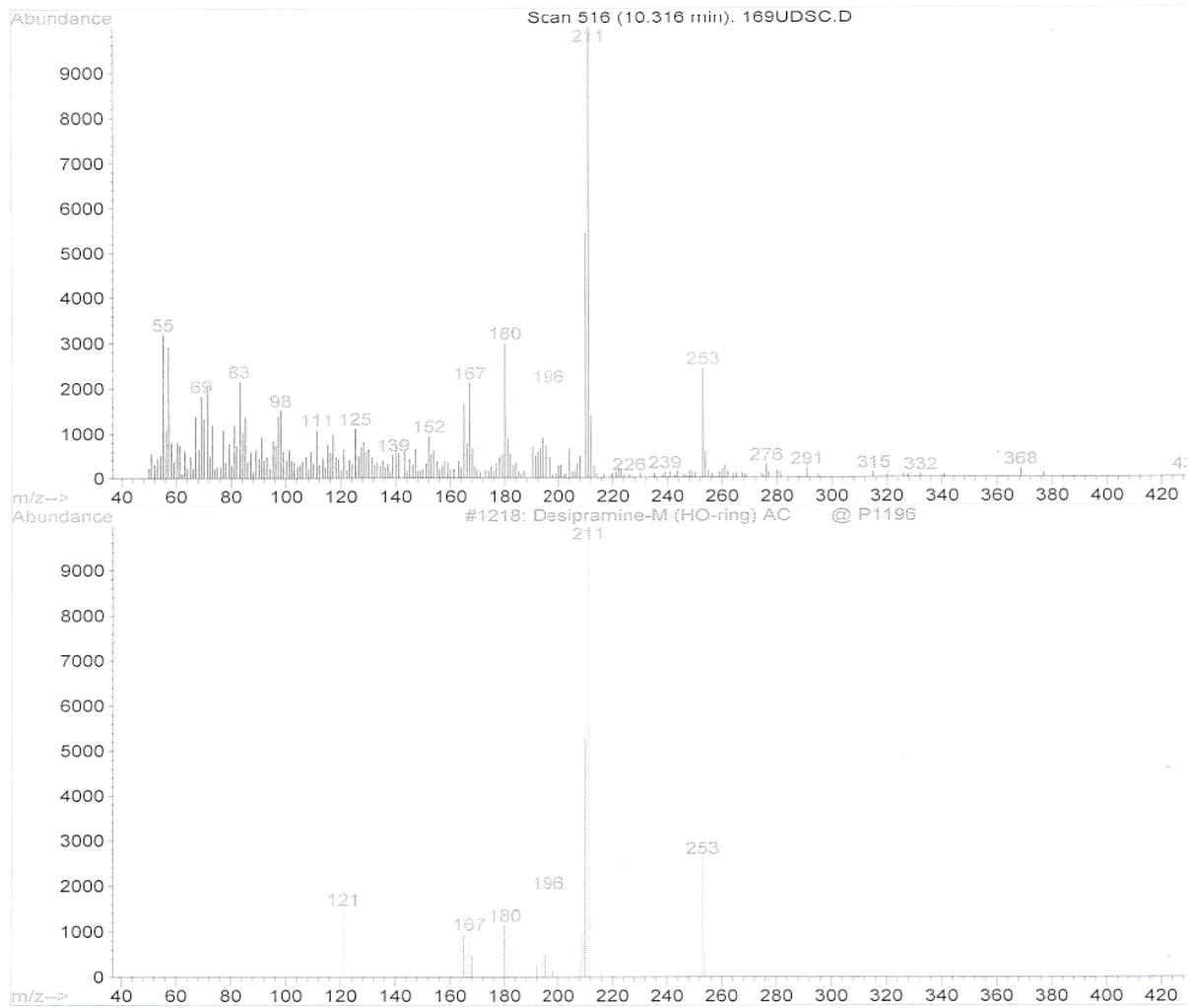


Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 95
ID : Mirtazapine-M (nor-) AC

P2641

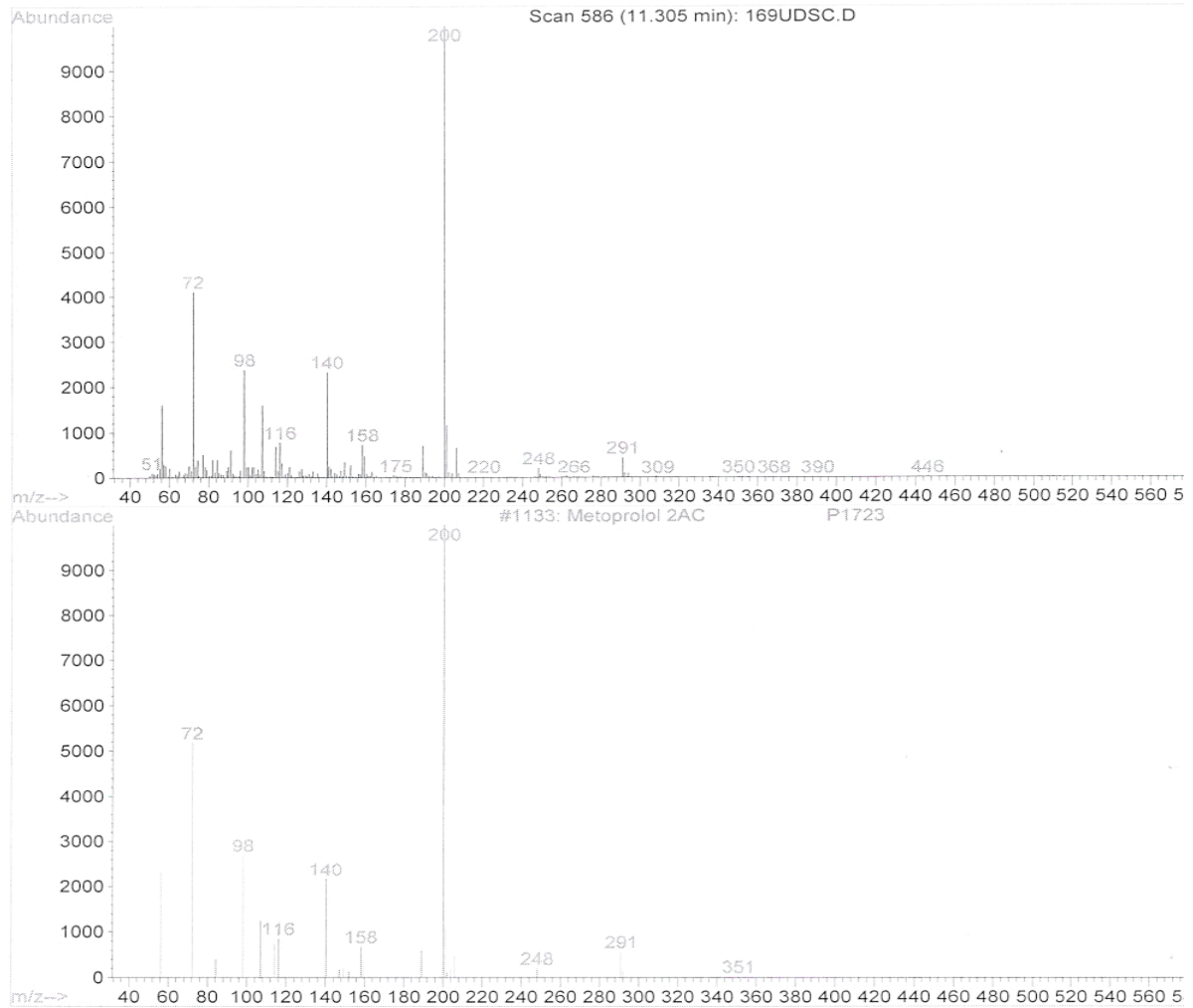


Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 91
ID : Desipramine-M (HO-ring) AC @ P1196

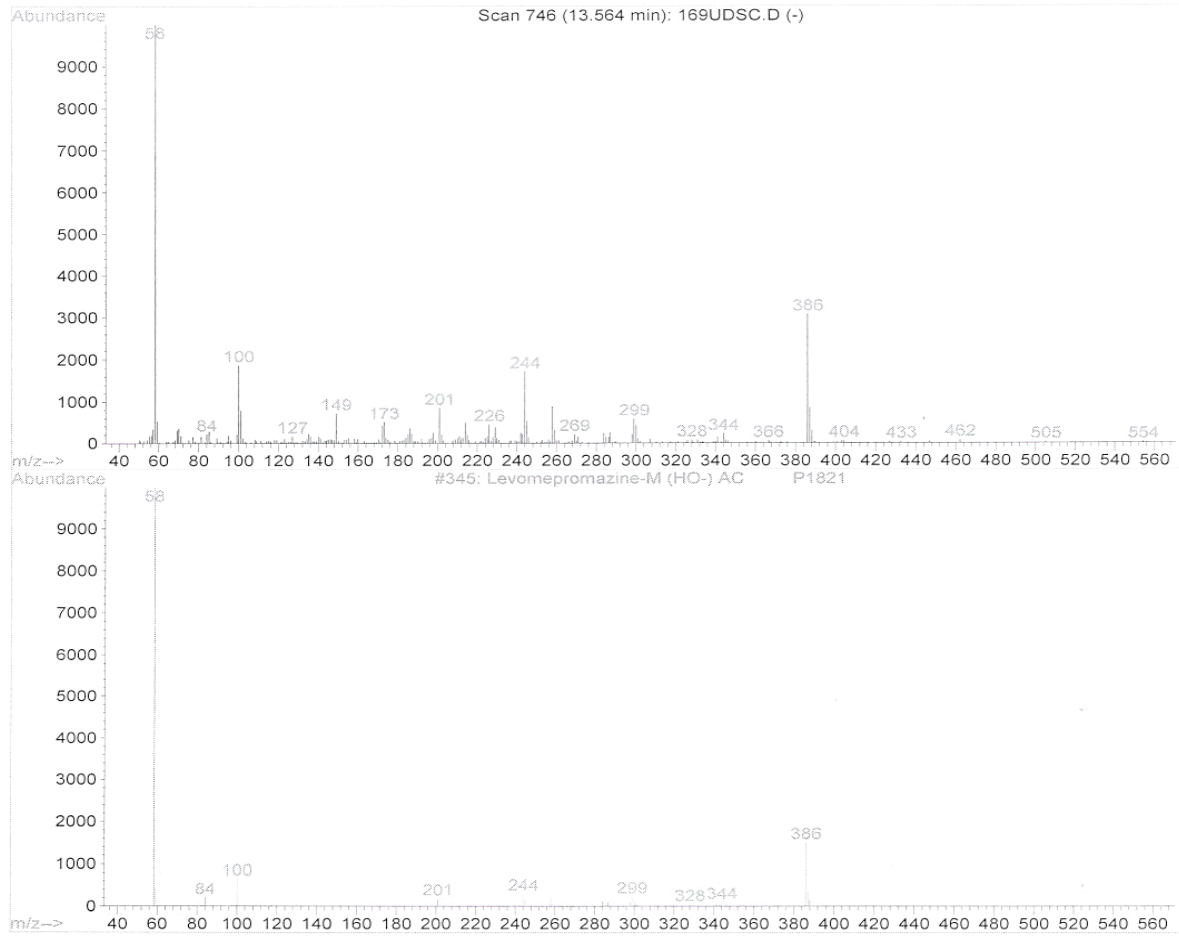


Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 90
ID : Metoprolol 2AC

P1723



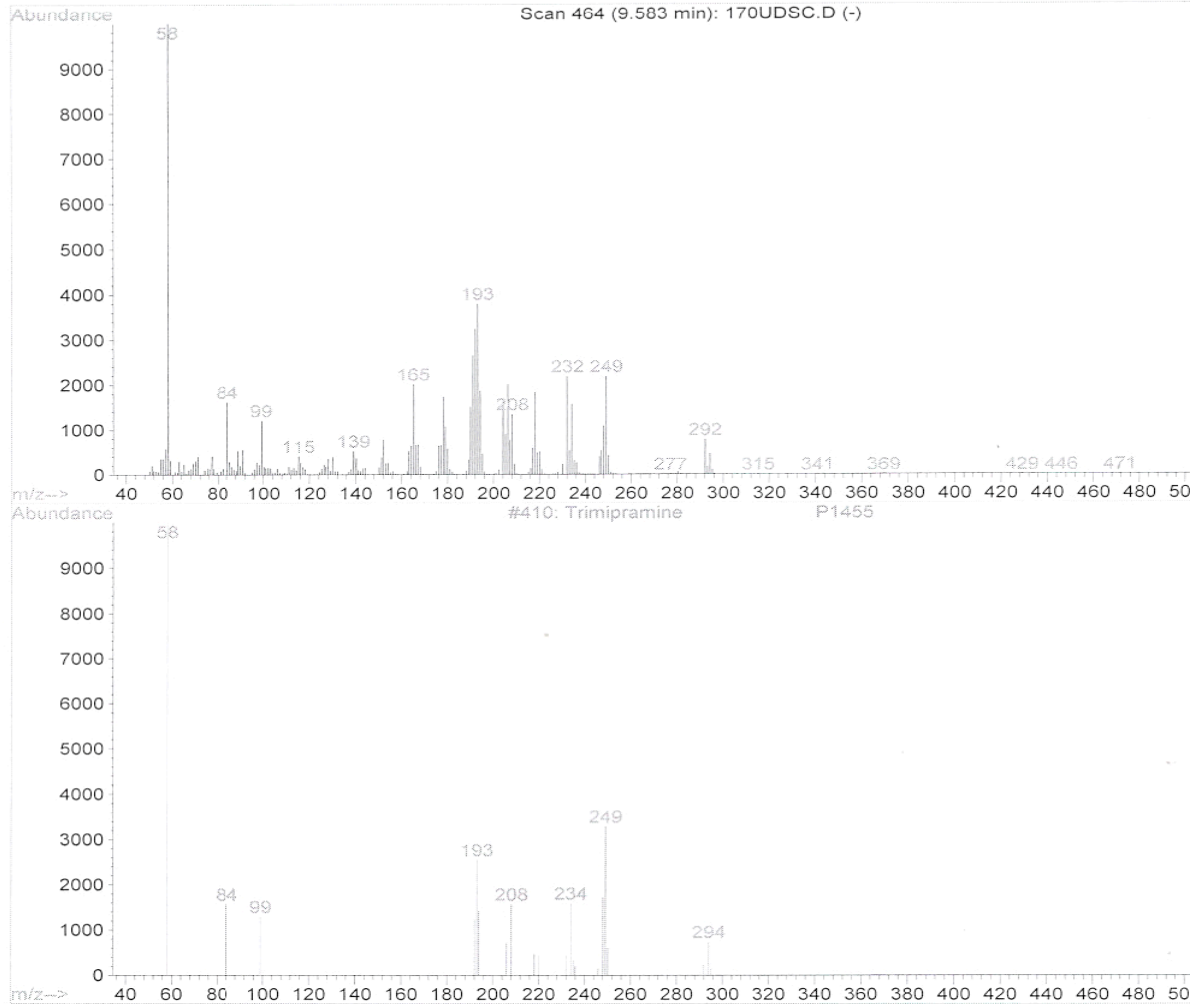
Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 60
ID : Levomepromazine-M (HO-) AC P1821



Probe vom 27.01.2004

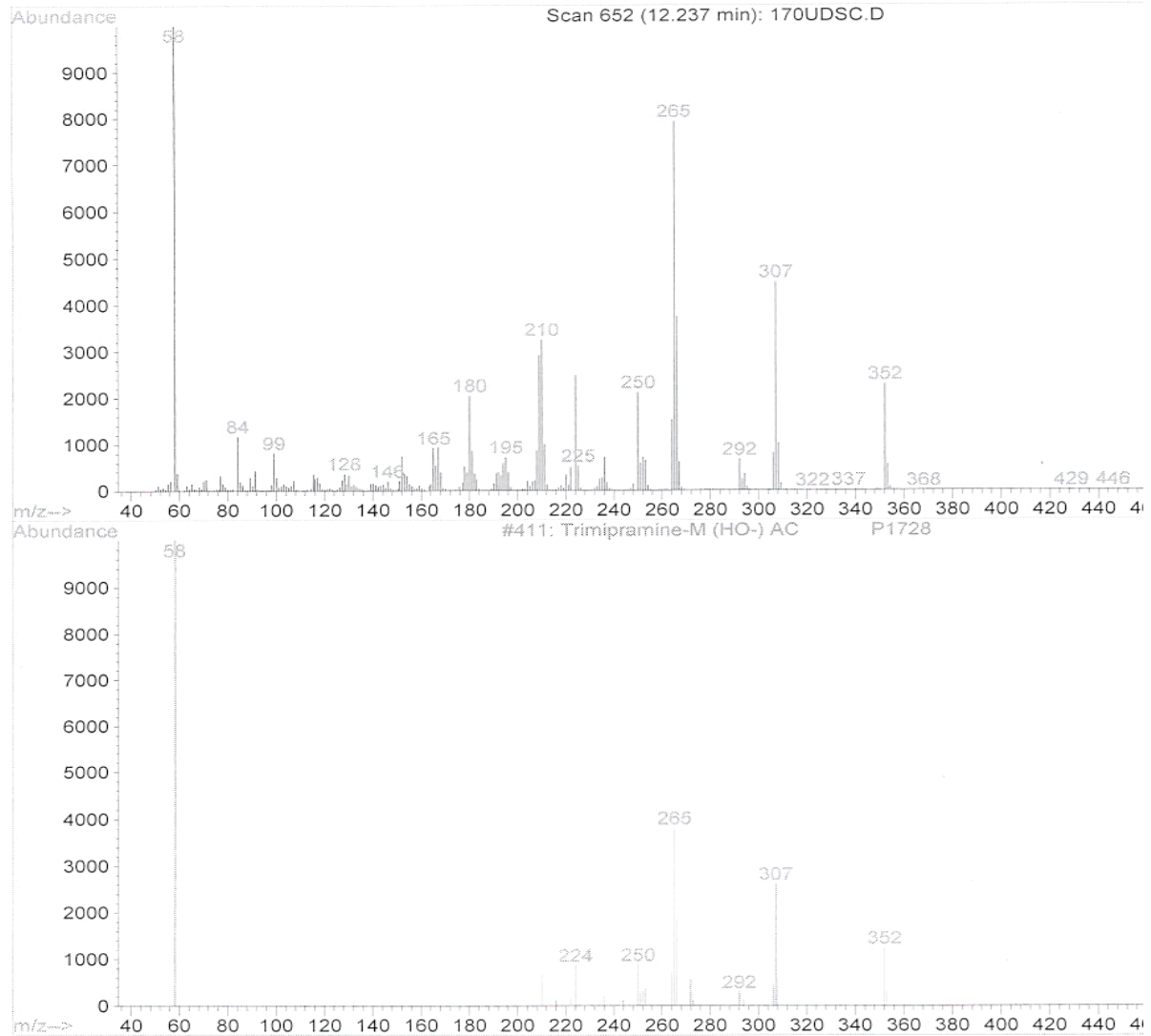
Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 55
ID : Trimipramine

P1455



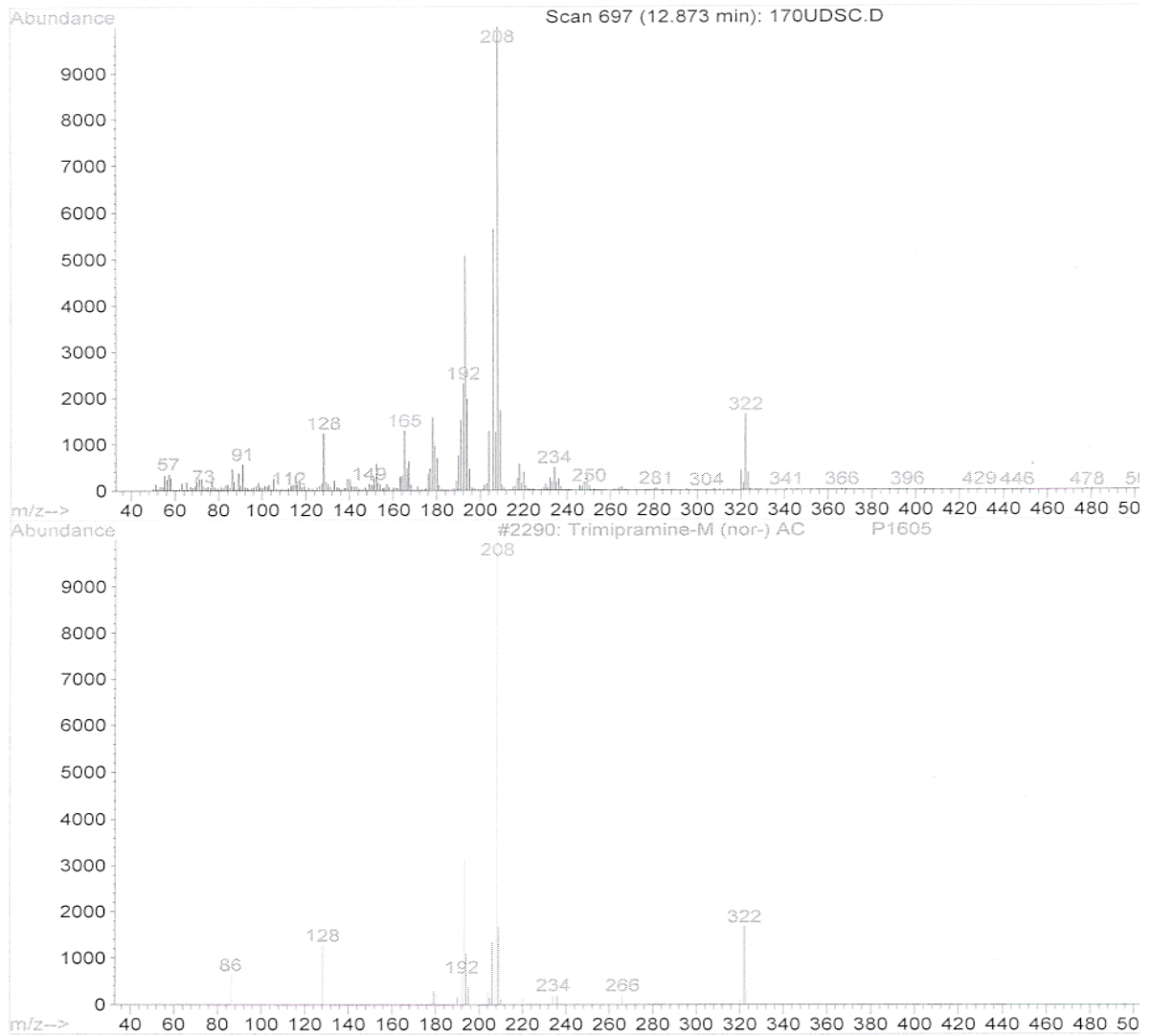
Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 92
ID : Trimipramine-M (HO-) AC

P1728



Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 60
ID : Trimipramine-M (nor-) AC

P1605

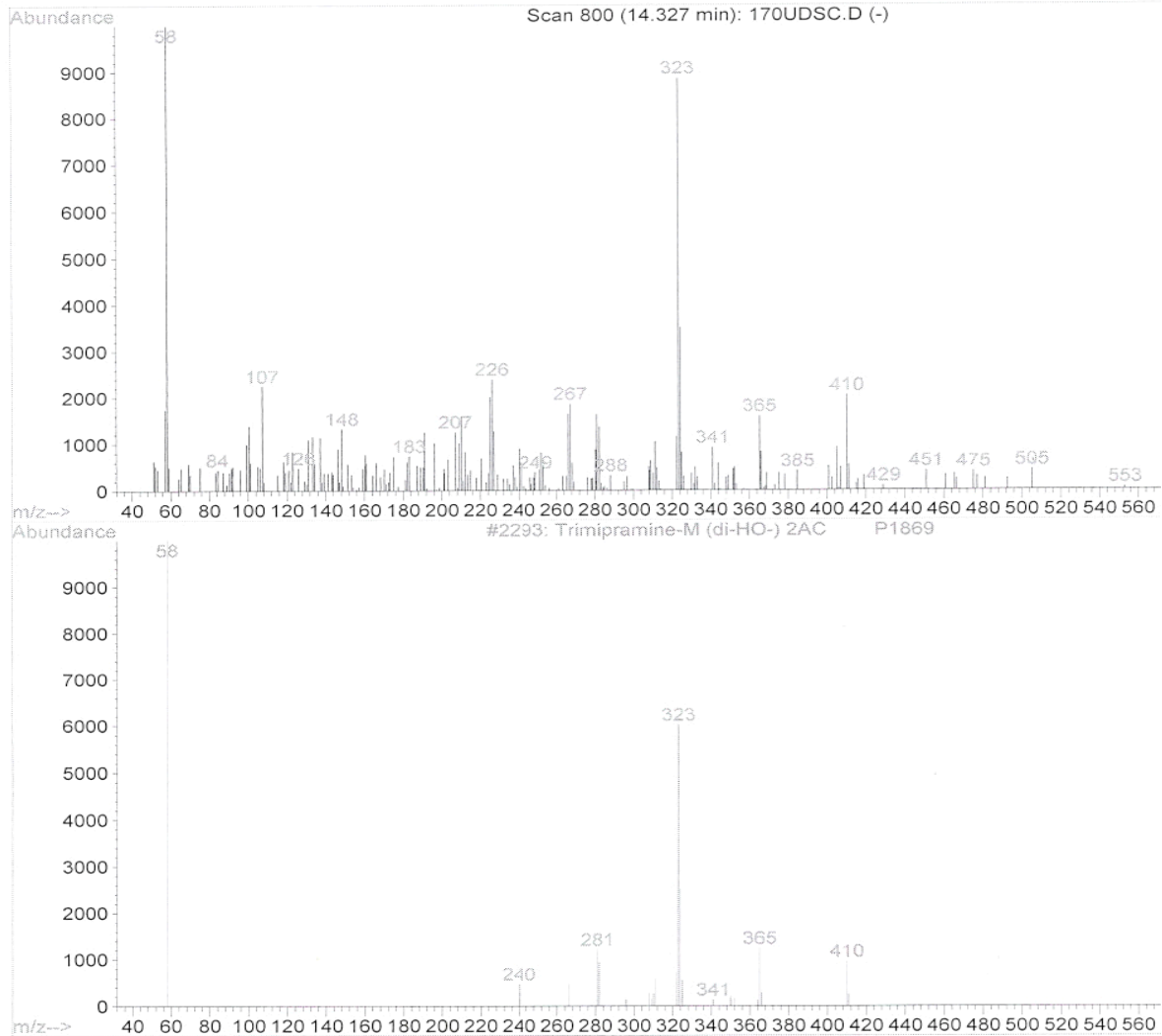


Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L

Quality : 96

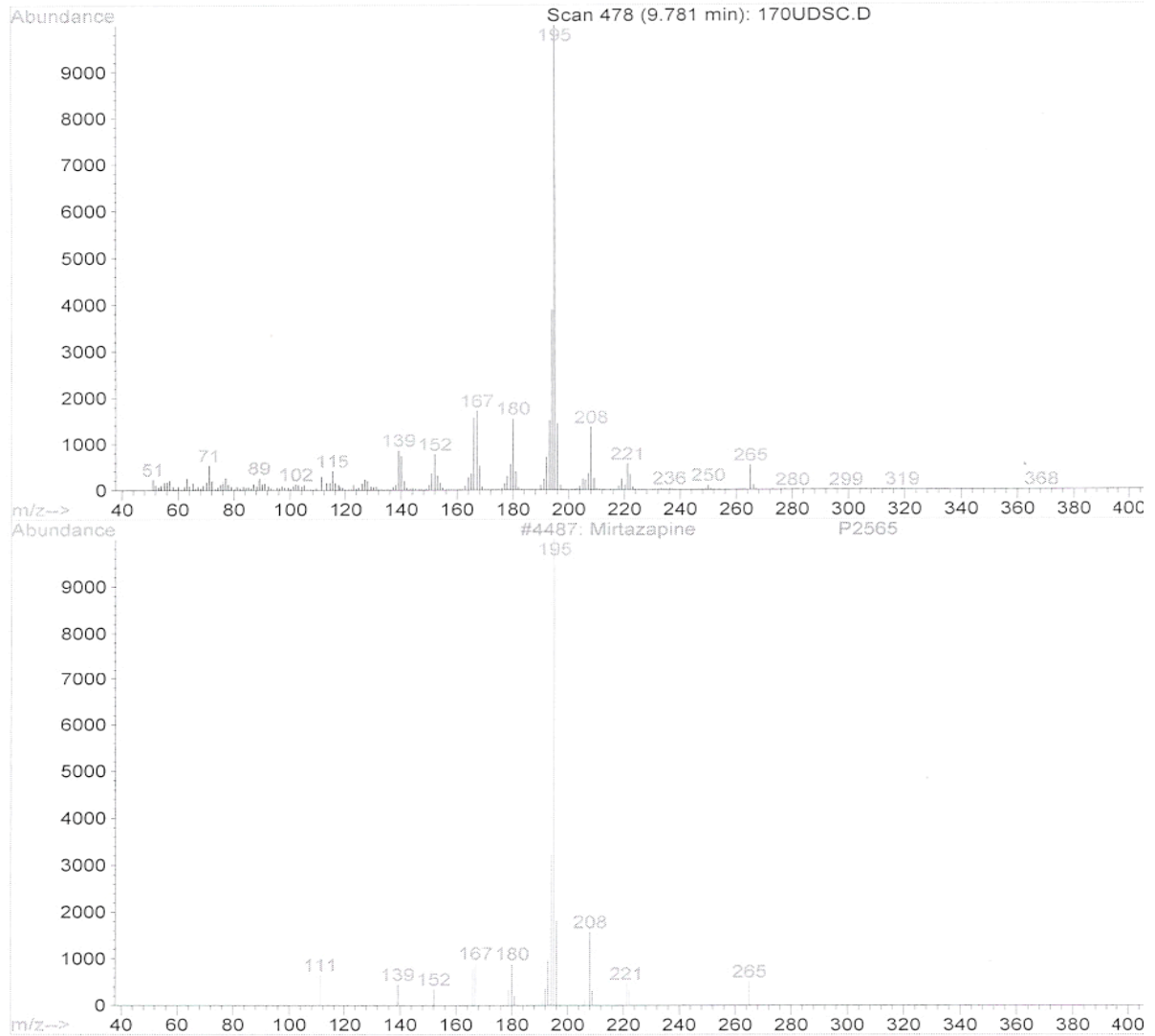
ID : Trimipramine-M (di-HO-) 2AC

P1869



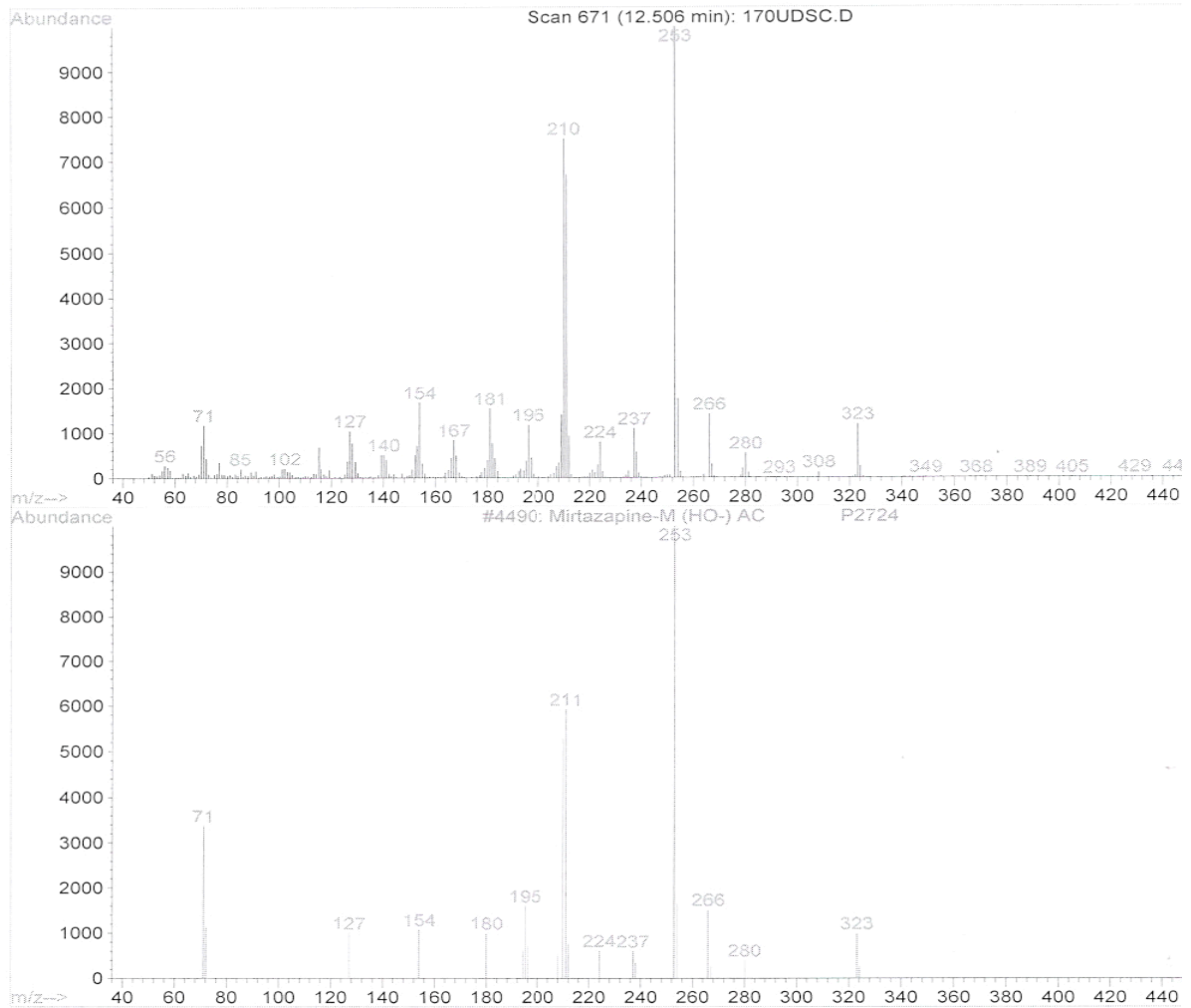
Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 90
ID : Mirtazapine

P2565



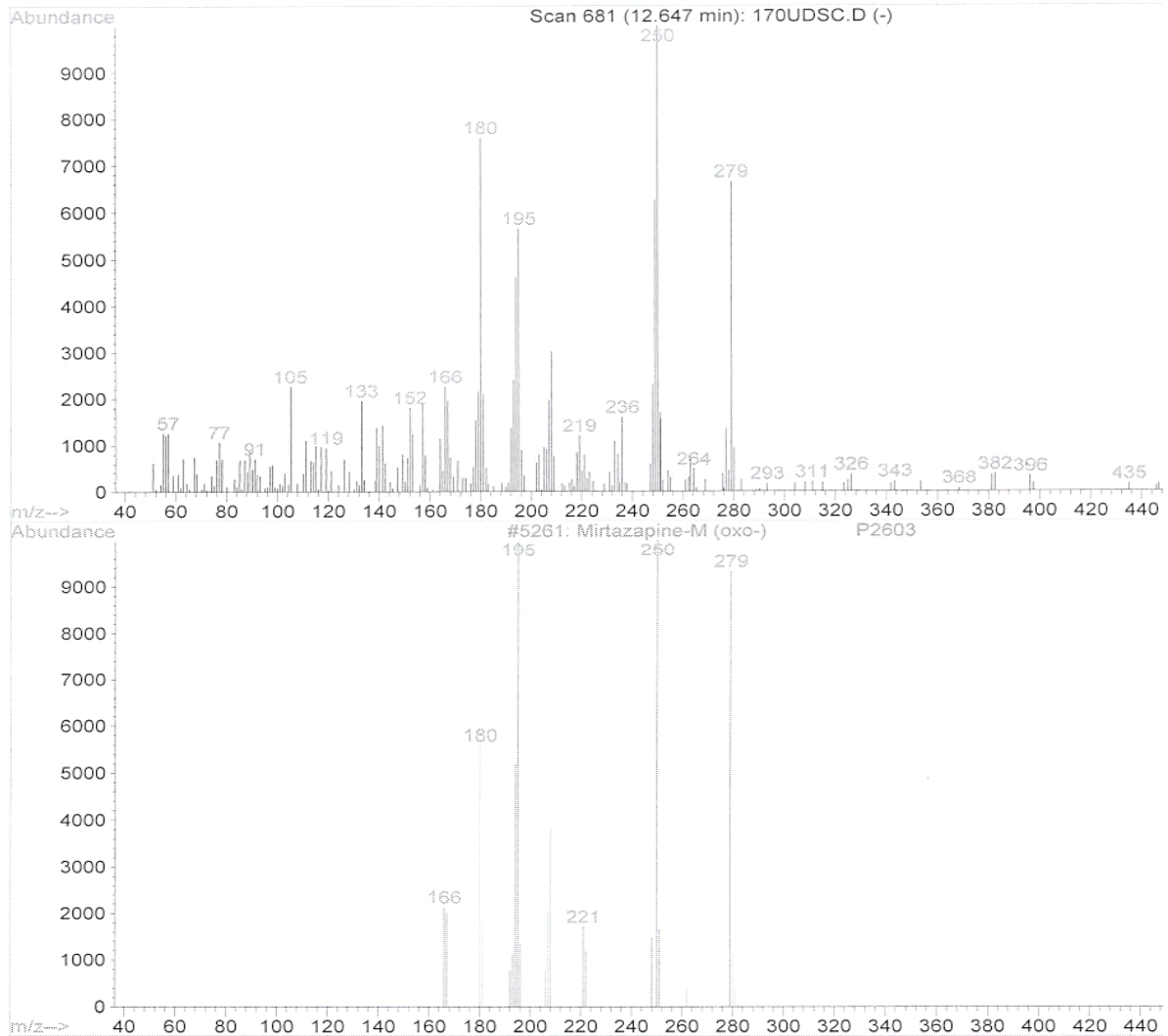
Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 93
ID : Mirtazapine-M (HO-) AC

P2724



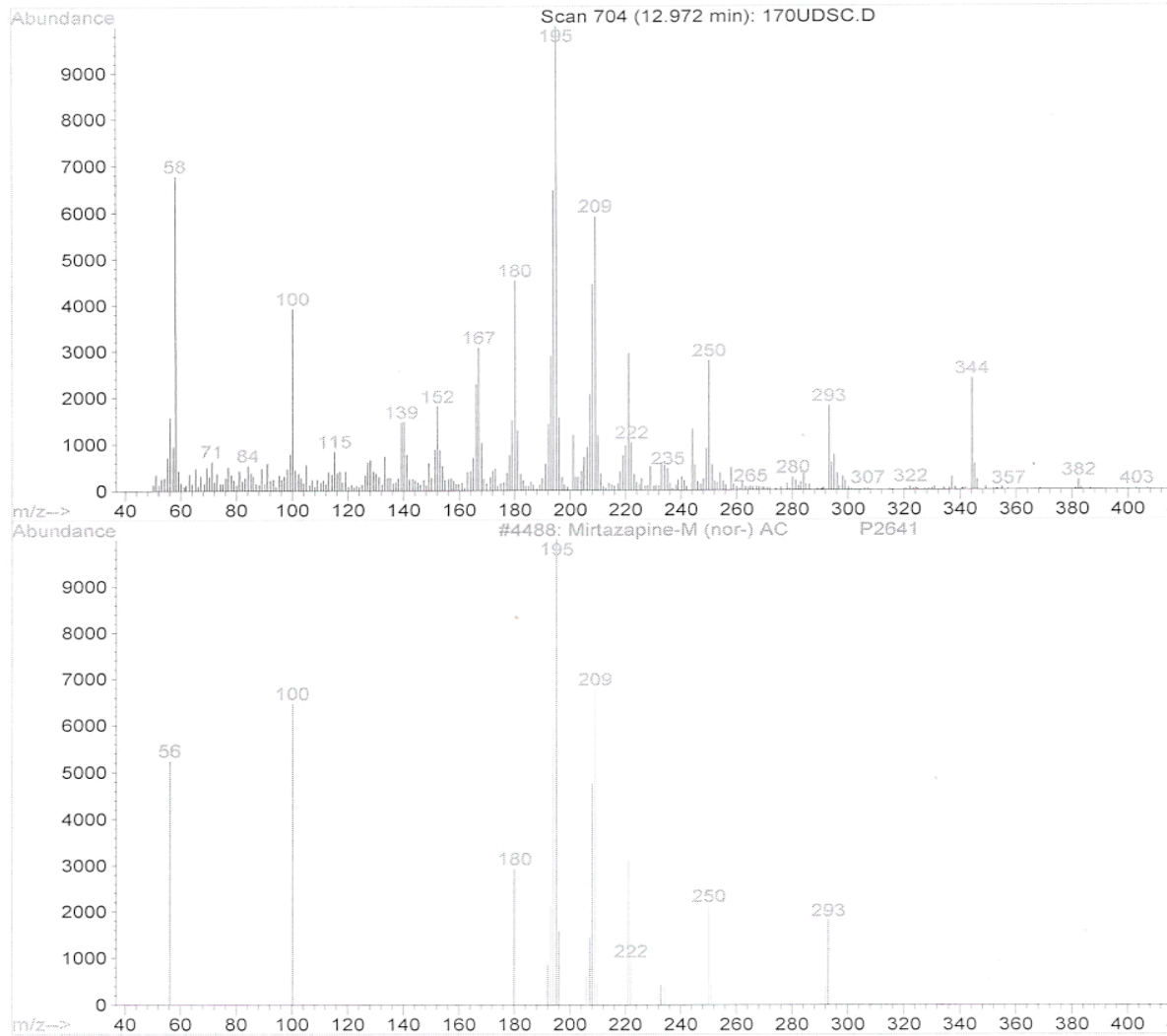
Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 64
ID : Mirtazapine-M (oxo-)

P2603

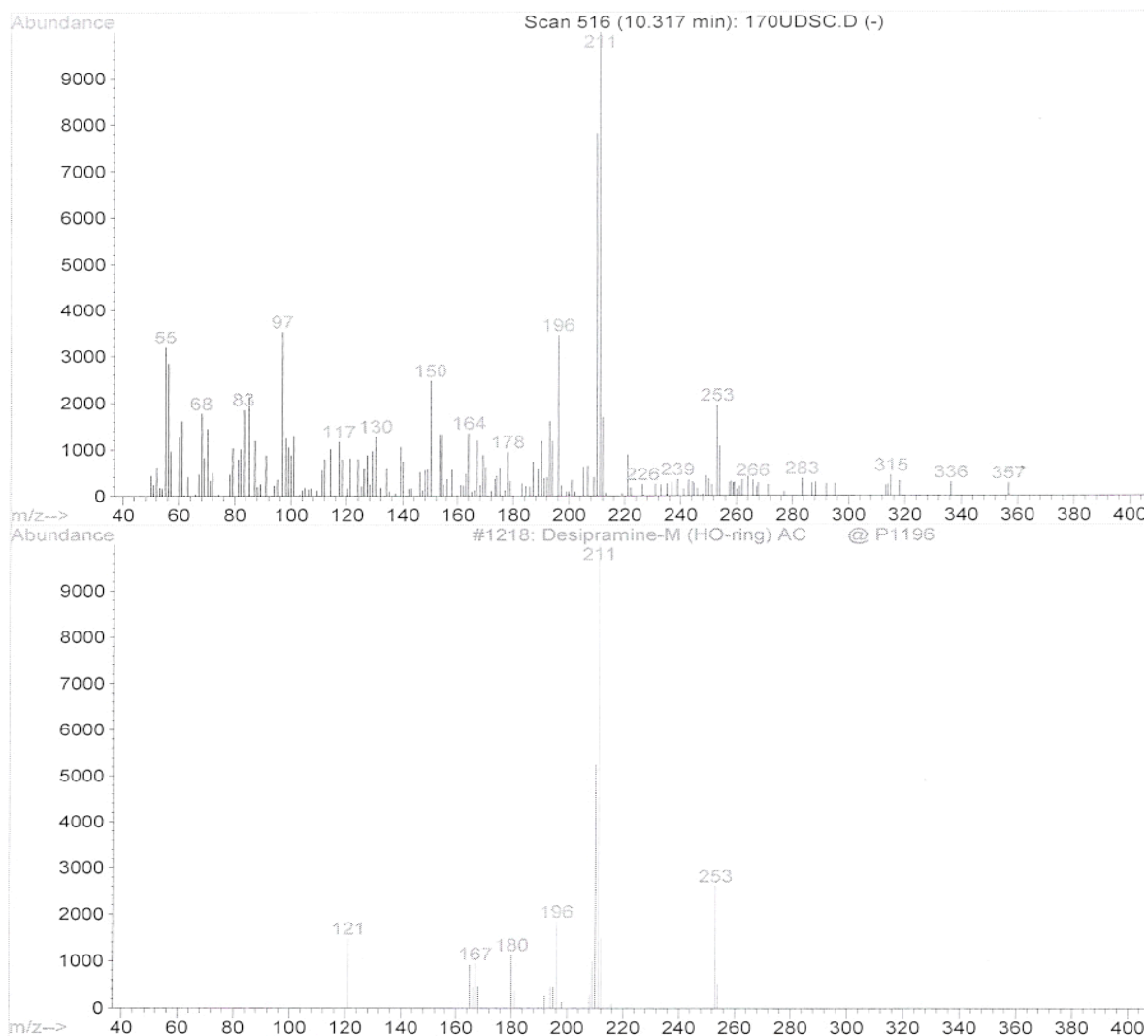


Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 98
ID : Mirtazapine-M (nor-) AC

P2641

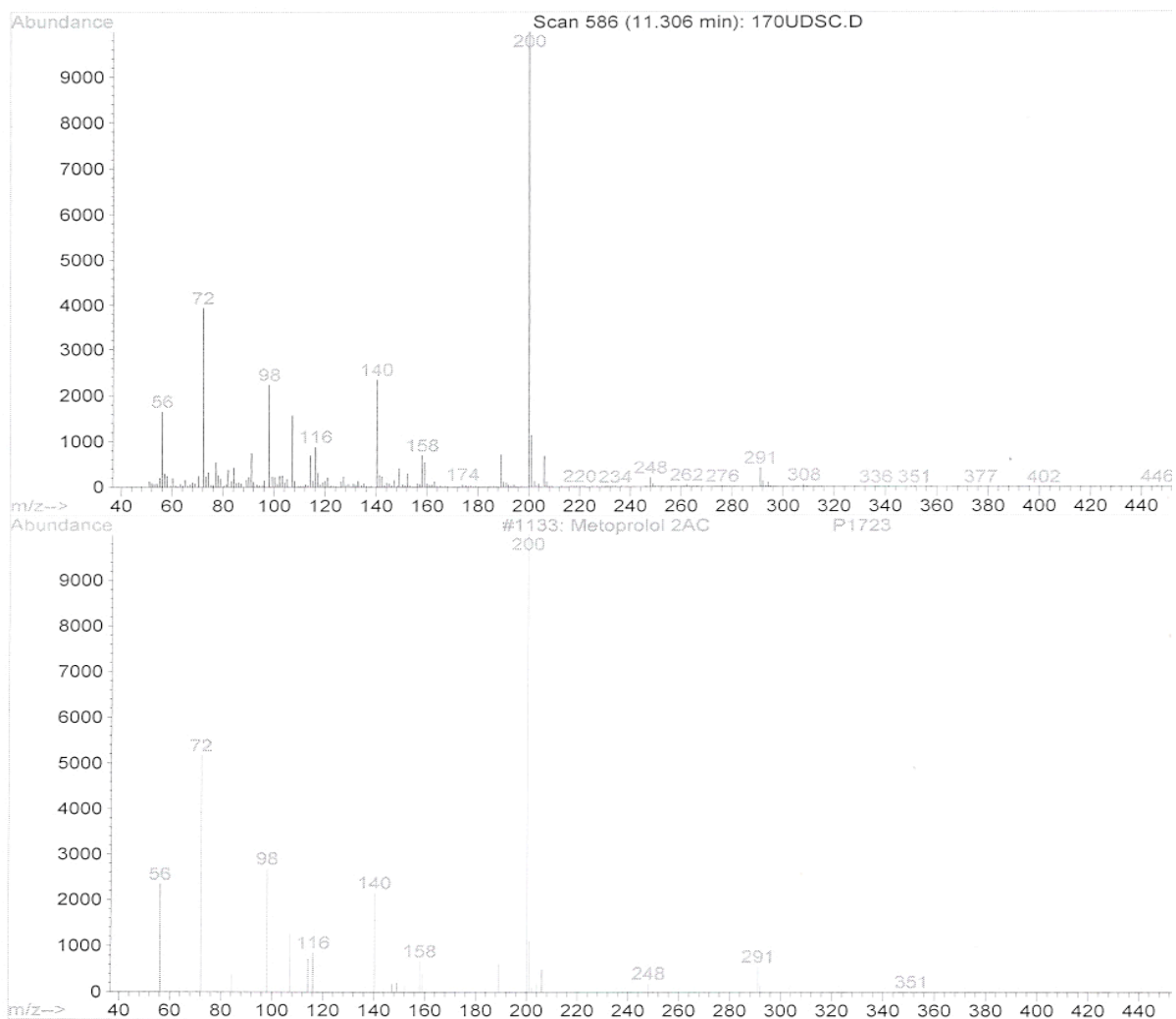


Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 64
ID : Desipramine-M (HO-ring) AC @ P1196



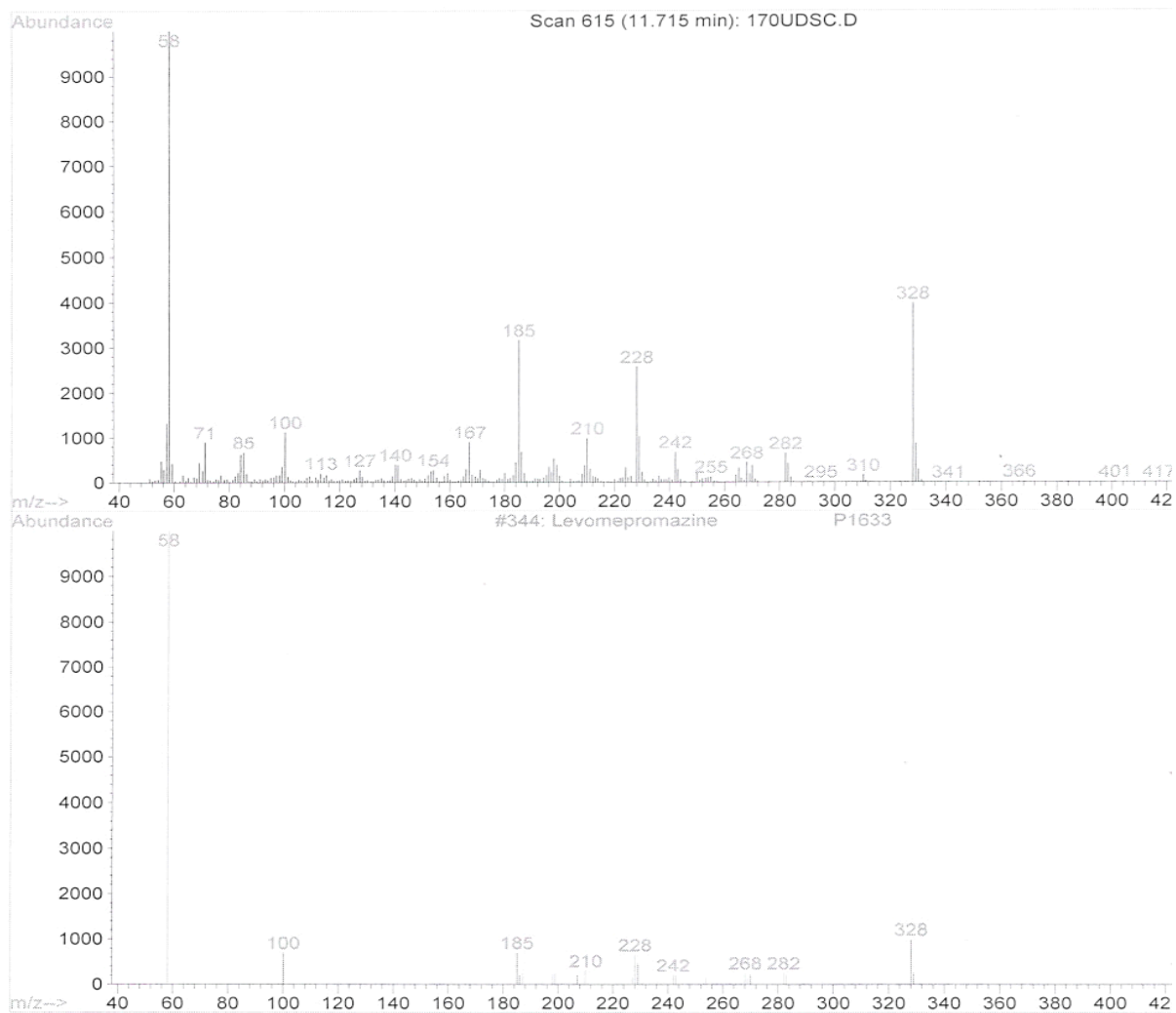
Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 90
ID : Metoprolol 2AC

P1723

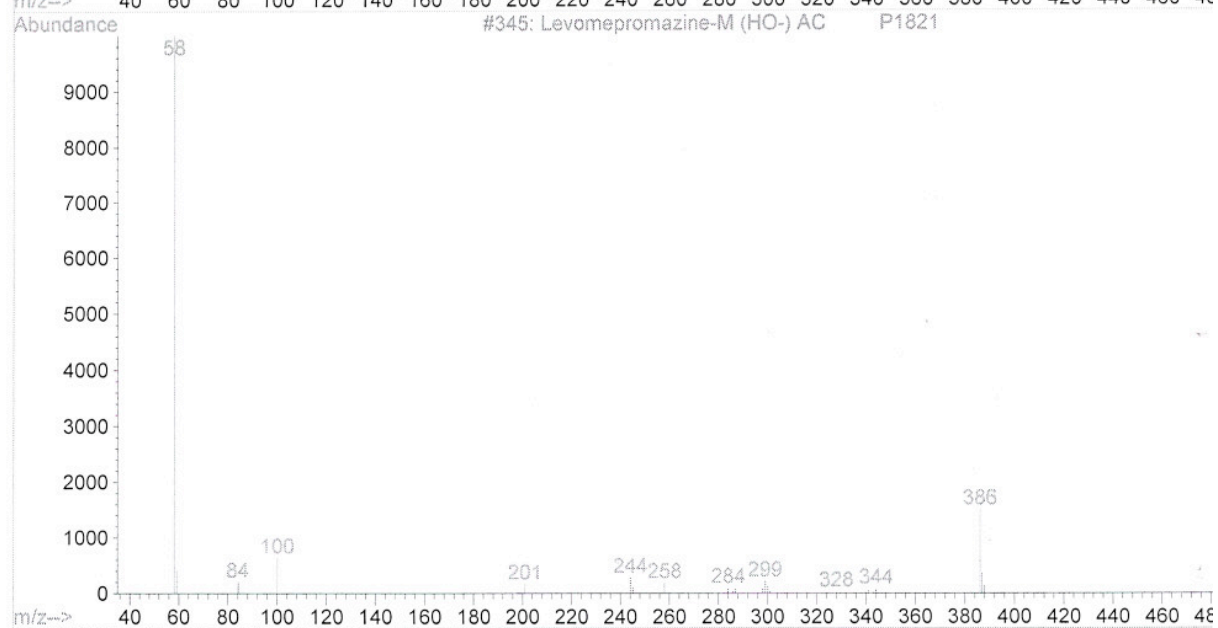
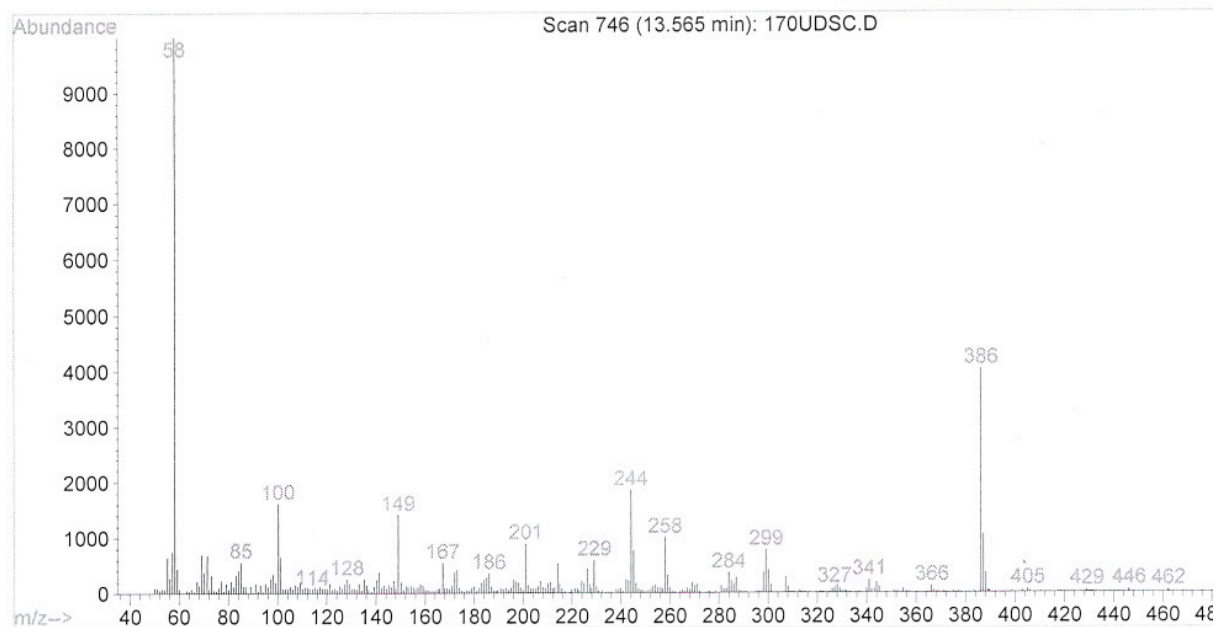


Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 38
ID : Levomepromazine

P1633



Library Searched : C:\DATABASE\PMW_TOX3.L
Quality : 89
ID : Levomepromazine-M (HO-) AC P1821



10. Literatur

Allgemeine Literatur zum Thema Immunoassays

Edwards R ed.: Immunoassay – Essential data. Chichester: Wiley, 1996.

Külpmann WR ed.: Klinisch-toxikologische Analytik. Weinheim: Wiley-VCH-Verlag, 2002.

Hand C, Baldwin D: Immunoassays. In: Moffat AC, Widdop B, ed. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons. 3rd ed. London – Chicago. Pharmaceutical Press, 2004

Law B, ed.: Immunoassay – A practical guide. London. Taylor & Francis, 1996

Schütz H: Drogenscreening mit Immunoassays. Pharmazie in unserer Zeit 1999, 28:320-328.

Wild D ed.: The Immunoassay Handbook. New York. Stockton Press, 1994.

Literatur zur vorliegenden Arbeit

Ahlquist R P: Adrenergic receptors: a personal and practical view.
Perspect. Biol. Med. 17:119-22, 1973.

Blanke R, Dubowski K, Chamberlain RT, King BJ, Kinchen SH: Abused Drug Testing: A Reference for Managers. Abbott Firmenschrift, Abbott Park, IL. (1990)

Budzikiewicz H: Massenspektrometrie – Eine Einführung; 3. erweiterte Auflage VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim

Caplan YH: Cocaine. Abused Drugs Monograph Series (Caplan YH, Ed.).
Abbott Laboratories, Diagnostics Division, Irving, Texas, 1994

Caplan YH: Die Sucht und ihre Stoffe – eine Informationsreihe über die gebräuchlichen Suchtstoffe, Deutsche Hauptstelle für Sucht, DHS-Faltblattserie Nr.3

Coper H: Die Sucht und ihre Stoffe – eine Informationsreihe über die gebräuchlichen Suchtstoffe, Deutsche Hauptstelle für Sucht, DHS-Faltblattserie Nr.8, www.dhs.de/html/amphetamine.html

De Zeeuw RA, Franke JP, Maurer H, Pflieger K: Gas-Chromatographic Retention Indices of Toxicologically Relevant Substances on Packed or Capillary Columns with Dimethylsilicone Stationary Phases. Third, Revised and Enlarged Edition. Report XVIII of the DFG-Commission for Clinical-Toxicological Analysis / Special Issue of the TIAFT Bulletin, VHC-Verlagsgesellschaft, Weinheim 1992

De Zeeuw RA, Franke JP, Degel F, Machbert G, Schütz H, Wijsbeek J: Thin-Layer Chromatographic Rf-Values of Toxicologically Relevant Substances on Standardized Systems. Report XVII of the DFG-Commission for Clinical-Toxicological Analysis / Special Issue of the TIAFT Bulletin. VHC-Verlagsgesellschaft, Weinheim 1992

Dölle W, Müller-Oerlingshausen B, Schwabe U: Grundlagen der Arzneimittelwirkung. Bibliographisches Institut Mannheim

Foley KM, Portenoy RK, Stulman J, Khan E, Adelhardt J, Layman M, Cerbone DF, Inturrisi CE: Plasma morphine and morphine-6-glucuronide during chronic morphine therapy for cancer pain: plasma profiles, steady-state concentrations and the consequences of renal failure. Pain 1991;47:13-9.

Forster H: Die Sucht und ihre Stoffe – eine Informationsreihe über die gebräuchlichen Suchtstoffe, Deutsche Hauptstelle für Sucht, DHS-Faltblattserie Nr.4

Frohn B: Schon die alten Ägypter kifften, Süddeutsche Zeitung 12. Nov. 1992

Funk W: Neue Techniken in der Dünnschichtchromatographie.
In: Vom Wasser 54: 207-225

Gibitz H.J, Schütz H, (unter Mitwirkung von Geldmacher – von Mallinckrodt M, Aderjan R. von Clarmann M, Daldrup T, Degel F, Hallbach J, Hannak D, Hausmann E, van Heijst A.N.P, Köppel C, Külpmann W.R, Lappenberg-Pelzer M, Machata G, Machbert G, von Meyer L, Rießelmann B. und Schuh A.): Einfache toxikologische Laboratoriumsuntersuchungen bei akuten Vergiftungen. Mitteilung XXIII der Senatskommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Klinisch-toxikologische Analytik. VHC-Verlagsgesellschaft; Weinheim, 1995

Goldberger B.A.: Opiates, abused drugs monograph series. Abbott Laboratories, 1994

Hayes L.W. et al: Concentrations of Morphine and Codeine in Serum and Urine after Ingestion of Poppy Seeds. Clin.Chem. 33/6: 806-808 (1987)

Hesse M, Meier H, Zeeh B: Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie, 2. Auflage. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1984

Hübschmann H.-J: Handbuch der GC/MS. 1.Auflage. VCH-Verlagsgesellschaft. Weinheim - New York-Basel – Cambridge - Tokyo, 1996

Jage J: Wirkungen und Nebenwirkungen von Methadon. Dtsch. Med. Wochenschr. 115: 552-555 (1990)

Kovar K, Rösch C, Rupp A, Hermle L: Synthetische Suchtstoffe der 2. Generation. Pharmazie in unserer Zeit. VCH Verlagsgesellschaft mbH. Weinheim, 1990

Kraus L: Kleines Lehrbuch der Dünnschichtchromatographie. 1.Auflage, DESAGA, Heidelberg

Küttler T: Pharmakologie und Toxikologie, Kurzlehrbuch. 17.Auflage. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart, 1996

Lindström B, Ericsson O, Alvan G, Rombo L, Rais M, Sjökvist F: Determination of chloroquine and its desethyl metabolite in whole blood: an application for samples collected in capillary tubes and dried on filter paper. *Ther. Drug. Monit.* 7, 207-210, 1985

Mc Lafferty FW: Interpretation of Mass Spectra. Third Edition University Science Books, Mill Valley California

Osterloh JD, Bell L: Amphetamines, abused drugs monograph series. Abbott Laboratories, 1988

Peat M.A, Peat J.J: Cannabinoids – Abused drugs monograph series. Abbott Laboratories. Irving, 1994

Pfleger K, Maurer HH, Weber A: Mass Spectral and GC Data of Drugs, Poisons, Pesticides, Pollutants and Their Metabolites (Part 1-4). VCH-Verlagsgesellschaft. Weinheim, 2002

Polizeiliche Kriminalstatistik, Bundeskriminalamt: Entwicklung der Rauschgiftdelikte in der Bundesrepublik Deutschland 2001. Wiesbaden, www.bka.de/phs/pks2001/index2.html

Schomburg G: Gaschromatographie: Grundlagen, Praxis, Kapillartechnik. 2. bearbeitete und erweiterte Auflage, 1987. VHC-Verlagsgesellschaft, Weinheim

Schütz H: Benzodiazepines – A Handbook (Vol.1), Basic Data, Analytical Methods, Pharmacokinetics and Comprehensive Literature . Springer-Verlag; Berlin – Heidelberg - New York, 1982

Schütz H: Benzodiazepines – A Handbook (Vol.2), Basic Data, Analytical Methods, Pharmacokinetics and Comprehensive Literature. Springer-Verlag. Berlin – Heidelberg - New York – London – Paris – Tokio, 1989

Schütz H: Dünnschichtchromatographische Suchanalyse für 1,4-Benzodiazepine im Harn, Blut und Mageninhalt. Mitteilung der Senatskommission der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Klinisch-toxikologische Analytik. VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim – Deerfield Beach – Basel, 1986

Schütz H, Erdmann F, Rochholz G, Weiler G: False Positive and False Negative Immunological Findings – A Permanent Risk of Analytical Pitfalls. *Jpn. J. Forensic Toxicol* 18, 14-20, 2000

Schütz H, Gotta JC, Erdmann F, Weiler G: Mikroanalytische toxikologische Untersuchung von Blutspuren im Tatfahrzeug zur Feststellung der drogenbedingten Fahruntüchtigkeit. *Rechtsmedizin* 11, 190, 2001

Schütz H: Screening Strategies in Forensic and Clinical Toxicology with Special Regard to Benzodiazepines. *Jpn. J. Forensic Toxicol* 14, 98-105, 1996

Schütz H: Screening von Drogen und Arzneimitteln mit Immunoassays – Ein Leitfaden für die Praxis – ABOTT AB1223, ABOTT Deutschland, Wiesbaden-Delkenheim, 1999

Schütz H, Gotta JC, Erdmann F, Riße M, Weiler G: Simultaneous Screening and Detection of Drugs in Small Blood Samples and Bloodstains. *Forens. Sci. Int.* 126, 191-196, 2002

Schütz H, Gotta JC, Erdmann F, Weiler G: Screening und Nachweis von Amphetaminderivaten in biologischem Spurenmaterial, Arch. Krim. 210, 22-27; 2002

Vree H. et al.: Die Sucht und ihre Stoffe – eine Informationsreihe über die gebräuchlichen Suchtstoffe. Deutsche Hauptstelle für Sucht, DHS-Faltblattserie Nr.8.
www.dhs.de/html/amphetamine.html

Wanke K: Drogen und Alkohol – Ihre Bedeutung für die psychologische Entwicklung bei Jugendlichen. Z. Allg. Med. 1989, (65), 93-97

Spezielle Literatur zum Thema „Spezifität“ sowie „Manipulation und Verfälschung“

Aderjan R., Schütz H, Käferstein H, Wilske J: Empfehlungen der Kommission „Grenzwertfragen bei Arzneimitteln und Suchtstoffen“ zum Nachweis von Betäubungsmitteln im Blut: Immunologische Messungen von Substanzen im Blut reichen für den Nachweis einer Ordnungswidrigkeit im Sinne des § 24 a StVG nicht aus. Blutalkohol, 2003, 40:337 – 342.

Al-Amri AM, El-Haj BM: Positive interference of the analgesic drug nefopam in the enzyme immunoassay (EMIT D.A.U.) for benzodiazepines. Bull Int Assoc Forens Toxicol 1999,29: 4.

As van H, Stolk LML: Rifampicin cross-reacts with opiate immunoassay. J Anal Toxicol 1999, 23:71.

Bogusz M, Maier RD, Hoenen H: Positive LSD immunoassay after sertraline intake. Bull Int Assoc Forensic Toxicol 1998, 28:11-12.

Brunk SD: False negative GC/MS assay for carboxy THC due to ibuprofen interference. Clin Chem 1988, 12:290-291.

Krämer T, Bock K, Wennig R, Maurer HH: The antispasmodic mebeverine leads to positive amphetamine results with the fluorescence polarization immuno assay – studies on the metabolism and the toxicological detection in urine by GC/MS and FPIA. Mosbach: XI Symposium der GTFCh 1999, pp. 34-43.

Krämer T, Wennig R, Maurer HH: The antispasmodic mebeverine leads to positive amphetamine results by fluorescence polarization immunoassay (FPIA) - Studies on the toxicological analysis of urine by FPIA and GC-MS. J Anal Toxicol 2001, 25:333-338.

Külpmann WR: Drug screening: Actual status, pitfalls and suggestions for improvement. J Lab Med 2004, 28:317-325.

Larsen J, Fogerson R: Nonsteroidal anti-inflammatory drug interferences in TDx assays for abused drugs. Clin Chem 1988, 34:987-988.

Lewis JH: Interference of gemfibrozil with Roche Testcup. J Anal Toxicol 1999, 23:384.

Linder MW, Valdes R: Mechanism and elimination of aspirin induced interferences in EMIT II d.a.u. assays. Clin Chem 1994, 40:1512-1516

Lora-Tamayo C, Tena T: High concentrations of metronidazole in urine invalidates EMIT results. J Anal Toxicol 1991, 15:159.

- Lora-Tamayo C, Tena T, Rodriguez A: High concentration of ciprofloxacin in urine invalidates EMIT results. *J Anal Toxicol* 1996, 20:334.
- Lotz J, Hafner G, Röhrich J, Zörntlein S, Kern T, Prellwitz W: False positive LSD drug screening induced by a mucolytic medication. *Clin Chem* 1998, 44:1580-1581.
- Luceri F, Godi F, Messeri G: Reducing false-negative tests in urinary drugs-of-abuse screening. *J Anal Toxicol* 1997, 21:244-245.
- Marson C, Schneider S, Meys F, Wennig R: Structural elucidation of an uncommon phenylethylamine analogue in urine responsible for discordant amphetamine immunoassay results. *J Anal Toxicol* 2000, 24:17-21.
- Matuch-Hite T, Jones P jr, Moriarity J: Interference of oxaprozine with benzodiazepines via enzyme immunoassay technique. *J Anal Toxicol* 1995, 19:130.
- Meatherall R, Dai J: False-positive EMIT II opiates from ofloxacin. *Ther Drug Monit* 1997, 19:98-99.
- Moorman P, McCoy M, Hague B, Huge D: Disopyramide cross-reactivity in a commercial immunoassay for methadone. *J Anal Toxicol* 1999, 23:299-300.
- Mura P, Kintz P, Robert R, Papet Y: Buflomedil is a potent interfering substance in immunoassays of tricyclic antidepressants. *J Anal Toxicol* 1998, 22:254.
- Nishikawa T, Kamijo Y, Ohtani H, Fraser AD: Oxaprozin interference with urinary benzodiazepine immunoassay and noninterference with receptor assay. *J Anal Toxicol* 1999, 23:125-126.
- Notarriani LJ, Belk D, Collins AJ: False positives and negatives in routine testing for drugs of abuse. *Lancet* 1995, 345:1115.
- Poklis A, O'Neal C: Potential for false-positive results by the TRIAGE™ panel of drugs-of-abuse immunoassay. *J Anal Toxicol* 1996, 20:209-210.
- Podkowik BI, Repka ML, Smith ML: Interference by ritodrine in GC/MS confirmation of delta-9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in urine. *Clin Chem* 1991, 37:1305-1306.
- Röhrich J, Zörntlein S, Lotz J, Becker J, Rittner C: False-positive LSD testing in urine samples from intensive care patients. *J Anal Toxicol* 1999, 22:393-395.
- Rollins DE, Jennison TA, Jones G: Investigation of interference by nonsteroidal anti-inflammatory drugs in urine tests for abused drugs. *Clin Chem* 1990, 36:602-606.
- Schneider S, Wennig R: Interference of diphenhydramine with the EMIT II immunoassay for propoxyphene. *J Anal Toxicol* 1999, 23:637-638.
- Schütz H: Screening von Drogen und Arzneimitteln mit Immunoassays. Ein Leitfaden für die Praxis. Wiesbaden. Wiss. Verlagsabteilung Abbott GmbH, 1992.
- Schütz H, Erdmann F, Magiera ES, Weiler G: Fehlerhafte Bestätigungsanalytik bei falsch-positiven Immunoassays und ihre Auswirkungen. *Arch Kriminol* 1998, 35:93-96.
- Schütz H, Erdmann F, Rochholz G, Weiler G: False Positive and False Negative Immunological Findings – A Permanent Risk of Analytical Pitfalls. *Jpn J Forensic Toxicol* 2000, 18:14-20.
- Schütz H, Erdmann F, Weiler G: Folgen unbestätigter Immunoassays mit mißverständlichem Befundbericht. *Toxichem + Krimtech* 1997, 64:95.

- Schütz H, Erdmann F, Verhoff M.A, Weiler G: Pitfalls of Toxicological Analysis. Legal Medicine 2003, 5,6-19.
- Schütz H, Rochholz G, Weiler G: Zur Problematik der falsch negativen Benzodiazepin-Immunoassays. Klin Lab 1992, 38:150-152.
- Schütz H, Verhoff MA, Erdmann F, Weiler G: Immunchemisches Screening: Manipulationen, Störungen und Fehlinterpretationen, dargestellt am Beispiel der Benzodiazepine. Arch Kriminol 2003, 212:141-150.
- Wagener RE, Linder MW, Valdes R: Decreased signal in EMIT assays of drug abuse in urine after ingestion of aspirin: potential of false-negative results. Clin Chem 1994, 40:608-612.
- Schütz H, Auch J, Erdmann F, Verhoff MA, Weiler G: Arzneim-Forsch (Drug Res) (in preparation).
- George S, Braithwaite RA: An investigation into the extent of possible dilution of specimens received for urinary drugs of abuse screening. Addiction 1995, 90:967-970.
- Goldberger BA, Loewenthal B, Darwin WD, Cone EJ: Intrasubject variation of creatinine and specific gravity measurements in consecutive urine specimens of heroin users. Clin Chem 1995, 41:116-117.
- Lafolie P, Beck O, Blennow G, Boreus L, Elwin C E, Karsson L, Odelius G, Hjemdahl P: Importance of creatinine analyses of urine when screening for abused drugs. Clin Chem 1991, 37:1927-1931.
- Needleman SB, Porvaznik M, Ander D: Creatinine analysis in single collection urine specimens. J Forens Sci 1992, 37:1125-1133.
- Pfleger K, Maurer HH, Weber A: Mass Spectral and GC Data of Drugs, Poisons, Pesticides, Pollutants and Their Metabolites (Part 1 - 4), Weinheim Wiley-VCH-Verlag, 2000.
- Schütz H, Weiler G, Erdmann F, Magiera ES, Schade S: Risiken von Sparmaßnahmen beim Drogen-Screening. Blutalkohol 1998, 35:139-144.
- Baiker C, Serrano L, Lindner B: Hypochlorite adulteration of urine causing decreased concentration of delta-9-THC-COOH by GC/MS. J Anal Toxicol 1994, 18:101-103.
- Bronner W, Nymann P, von Minden D: Detectability of phencyclidine and 11-nor-delta-9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in adulterated urine by radioimmunoassay and fluorescence polarization immunoassay. J Anal Toxicol 1990, 14:368-371.
- Cody JT: Specimen adulteration in drug urinalysis. Forens Sci Rev 1990, 2:63-75.
- Cody JT: Adulteration of urine specimens. In: Liu RH and Goldberger BA, ed: Handbook of Workplace Drug Testing. Washington DC, AACC Press 1995, 181-208.
- Cody JT, Valtier S: Effects of stealth adulterant on immunoassay testing for drugs of abuse. J Anal Toxicol 2001, 25:466-470.
- Cody JT, Valtier S, Kuhlman J: Analysis of morphine and codeine in samples adulterated with stealthTM. J Anal Toxicol 2001, 25:572-575.
- Davis KH: Adulterants update. Society of Forensic Toxicologists anual meeting. San Juan (Puerto Rico), 1999.
- Edwards C, Fyfe MJ, Liu RH, Walia AS: Evaluation of common urine specimen adulteration indicators. J Anal Toxicol 1993, 17:251-252.

- ElSohly MA, Feng S, Kopycki WJ, Murphy TP, Jones AB, Davis A, Carr D: A procedure to overcome interferences caused by adulterant „Klear“ in the GC/MS analysis of 11-nor-delta-9-THC-9-COOH. *J Anal Toxicol* 1997, 21:240-242.
- George S, Braithwaite RA: The effect of glutaraldehyde adulteration of urine specimens on Syva EMIT II drugs-of-abuse assays. *J Anal Toxicol* 1996, 20:195-196.
- Goldberger BA, Caplan YH: Effect of glutaraldehyde (Urin Aid) on detection of abused drugs in urine by immunoassay. *Clin Chem* 1994, 40:1605-1606.
- Hagemann P, Siegrist M: Verfälschungsstoffe beim Drogennachweis. *Lab Med* 1990, 14:114-120.
- Liu RH: Important considerations in the interpretation of forensic drug test results. *Forensic Sci Rev* 1992, 4:52-65.
- Martz W: Untersuchungen zu propagierten Methoden der Urinverfälschung vor dem Drogentest. *Toxichem + Krimtech* 1997, 64:88-94.
- Mikkelsen SL, Ash KO: Adulterants causing false negatives in illicit drug testing. *Clin Chem* 1988, 34:2333-2336.
- Paul BD, Martin KK, Maguilo jr J, Smith ML: Effects of pyridinium chlorochromate adulterant (urine luck) on testing for drugs of abuse and a method for quantitative detection of chromium (VI) in urine. *J Anal Toxicol* 2000, 24:233-237.
- Pearson SD, Ash KO, Urry FM: Mechanism of false-negative urine cannabinoid immunoassay screens by VisineTM eyedrops. *Clin Chem* 1989, 35:636-638.
- Sansom HL, Freser MD, Botelho C, Kuntz DC, Foltz RL: Detection of urine specimens adulterated with UrinAid. Presented at the Society of Forensic Toxicologists annual meeting, Phoenix (AZ), 1993.
- Schwarzhoff R, Cody JT: He effects of adulterating agents on FPIA analysis of urine for drugs of abuse. *J Anal Tox* 1993, 17:14-17.
- Singh J, Elberling JS, Hemphill DG, Holmstrom J: The measurement of nitrite in adulterated urine samples by high-performance ion chromatography. *J Anal Toxicol* 1999, 23:137-140.
- Skopp G, Pötsch L, Becker J, Röhrich J, Mattern R: Zur präanalytischen Phase chemisch-toxikologischer Untersuchungen. I. Immunchemisches Drogenscreening im Urin - Erkennbarkeit von Manipulationen und Strategien bei rechtsmedizinischer Fragestellung. *Rechtsmedizin* 1998, 8:163-167.
- Smith BL, Wilson FW: Effect of adulterants on urine tests. *Ther Drug Monit* 1997, 5:586.
- Tsai SC, ElSohly MA, Dubrovsky T, Twarowska B, Towt J, Salamone SJ: Determination of five abused drugs in nitrite-adulterated urine by immunoassays and gas chromatography-mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 1998, 22:474-480.
- Tytgat J, Boven van M, Daenens P: Cannabinoid mimics in chocolate utilized as an argument in court. *Int J Legal Med* 2000, 113:137-139.
- Urry FM, Komaromy-Hiller G, Staley B, Crockett DK, Kushnir M, Nelson G, Struempfer RE: Nitrite adulteration of workplace urine drug-testing specimens. I. Sources and associated concentrations of nitrite in urine and distinction between natural sources and adulteration. *J Anal Toxicol* 1998, 22:89-95.

Warner A: Interference of common household chemicals in immunoassay methods for drugs of abuse. Clin Chem 1989, 35:648-651.

Wu AH, Bristol B, Sexton K, Cassella-McLane G, Holtman V, Hill DW: Adulteration of urine by „Urine Luck“. Clin Chem 1999, 45:1051-1057.

Wu AHB, Forte E, Casella G, Sun K, Hemphill G, Forey R, Schanzenbach H: CEDIA for screening drugs of abuse in urine adulterants. J Forens Sci 1995, 40:614-618

Wu A, Schmalz J, Bennett W: Identification of Urine Aids adulterated specimens by fluorimetric analysis. Clin Chem 1994, 40: 845-846

11. Lebenslauf

geboren am 21.01.1973 in Moskau

Schulbildung

| | |
|-----------|--|
| 1980-1990 | Besuch der Otto-Grotewohl-Oberschule in Moskau |
| 1990 | Abitur |

Studium

| | |
|-----------|--|
| 1990-1996 | Studium der Humanmedizin an der Hochschule für Human- und Zahnmedizin Moskau |
|-----------|--|

Berufliche Tätigkeit

| | |
|----------------|---|
| 1996-1997 | Arzt im Praktikum im Zentralen Moskauer Gebietskrankenhaus für Psychiatrie |
| 1997-1999 | Facharztausbildung in der klinischen Ordinator des GNZ für Sozial- und Gerichtspsychiatrie „W.P.Serbskij“ in Moskau |
| 2000-2001 | Assistenzarzt in der Suchtklinik des Diakonie-Krankenhauses Elbingerode/Harz |
| seit Juli 2001 | Assistenzarzt im Landeskrankenhaus Hildesheim |

12. Danksagung und Erklärung

Nach dem erfolgreichen Abschluss der vorliegenden Arbeit schulde ich vielen Menschen meinen herzlichen Dank.

An erster Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. H. Schütz danken, der mir viel Geduld und Vertrauen entgegengebracht hat und mich in schwierigen Situationen mit seiner Diskussionsbereitschaft und seinen wertvollen Ratschlägen motiviert und unterstützt hat.

Dank schulde ich auch Dr. Freidoon Erdmann, dessen tatkräftige Unterstützung und Richtungsweisung für das Entstehen und das Gelingen der Arbeit wichtige Voraussetzungen waren.

Herzlicher Dank gebührt weiterhin Herrn Marco Becker und Herrn Markus Schwinn, die mich mit Ihrer technischen Versiertheit, Ihrer Geduld und Ihrer konstruktiven Kritik trotz des labormedizinischen Alltags durch wertvolle Anregungen und fundierte Empfehlungen tatkräftig unterstützten.

Bedanken möchte ich mich weiterhin bei Herrn Prof. Dr. G. Weiler, der mir die Möglichkeit des praktischen Teils der Dissertation in dem Institut für Rechtsmedizin ermöglichte.

Erklärung

Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

13. Zusammenfassung / Summary

Zusammenfassung

Immunoassays werden inzwischen weltweit zum schnellen Drogenscreening eingesetzt. Sie sind ein wertvolles Hilfsmittel zur Suchanalyse für legale und illegale Drogen aber es besteht ein nicht zu vernachlässigendes Risiko von falsch-negativen und falsch-positiven Befunden und zahlreiche Fehlerquellen müssen in Betracht gezogen werden, wenn sie unkritisch interpretiert und ohne valide Bestätigungsverfahren eingesetzt werden.

In einer langjährigen erfolgreichen Zusammenarbeit mit einer großen psychiatrischen Klinik überprüften wir zweifelhafte und inplausible immunchemische Harnbefunde mit gaschromatographisch-massenspektrometrischen Bestätigungsmethoden.

In der Arbeit werden anhand von Fallbeispielen typische Fehlerquellen, wie z.B. der Einfluss unkritischer Kreatininkorrekturen, simultaner Medikationen, wechselnder Ernährungsgewohnheiten und eingeschränkter Elimination aufgezeigt.

In Übereinkunft mit nationalen und internationalen Fachgesellschaften ist festzustellen, dass Immunoassays ohne jeden Zweifel als wertvolle Screeningverfahren zu empfehlen sind. Andererseits ist eine Bestätigungsanalyse mit definitiven Methoden (GC/MS oder LC/MS) zur validen Identifizierung, Unterscheidung zwischen aktiven und inaktiven Metaboliten, Erfassung von Begleitstoffen und präziser Bestimmung in Körperflüssigkeiten unverzichtbar.

Summary

Nowadays immunoassays are used worldwide for the rapid screening of drugs. Despite the fact that they are a highly valuable tool for the testing of legal and illicit drugs, there is a non-negligable risk of false positive and false negative findings and many pitfalls must be taken into account when using these tests in an uncritical manner and without valid confirmation procedures.

In a long standing succesful cooperation with a large psychiatric hospital, we checked doubtful and non-plausible immunochemical findings in urine with gas-chromatography / mass-spectrometry confirmation methods.

The reported case histories demonstrate typical pitfalls, e.g. uncritical creatinine correction, cross-reactivities of simultaneous therapeutic medication, influence of changing nutritional habits and impaired elimination.

In accordance with national and international associations, immunoassays are recommended as a useful tool for screening. However, confirmation analysis with conclusive methods (GC/MS or LC/MS) is unavoidable for valid substance identification, discrimination between active and inactive metabolites, detection of congeners and accurate determination of concentrations in body fluids.